

PHARMAKOKINETISCHE
UNTERSUCHUNGEN VON AMOXICILLIN
BEI DER GESUNDEN UND SPEZIFISCH
GESCHÄDIGTEN ADULTEN TAUBE
(COLUMBA LIVIA GMEL., 1789)

Jörg Krieg

Duss
München
1986



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Geflügelkrankheiten
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Josef Kösters

PHARMAKOKINETISCHE UNTERSUCHUNGEN VON
AMOXICILLIN
BEI DER GESUNDEN UND SPEZIFISCH GESCHÄDIGTEN
ADULTEN TAUBE (COLUMBA LIVIA GMEL., 1789)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Jörg Krieg
aus Pforzheim

München 1986

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. J. Kösters

Korreferent: Prof. Dr. M.J. Forstner

Tag der Promotion: 28. Februar 1986

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. LITERATUR	3
2.1. Geschichte	3
2.2. Pharmakologie	3
2.2.1. Struktur	3
2.2.2. Chemisch-physikalische Eigenschaften	4
2.3. Wirkung	5
2.3.1. Wirkungsmechanismus	5
2.3.2. Wirkungsspektrum	5
2.3.3. Wirksamkeit	7
2.4. Resistenzen	9
2.5. Kreuzresistenz	9
2.6. Synergismus	10
2.7. Antagonismus	10
2.8. Pharmakokinetik	11
2.8.1. Aufnahme	11
2.8.2. Verteilung im Organismus	11
2.8.3. Abbau und Ausscheidung	13
2.9. Toxizität	13
2.10. Dosierung	14
2.11. Anwendung und Bedeutung in der Humanmedizin	14
2.12. Anwendung und Bedeutung in der Veterinärmedizin	16
2.13. Nachweisverfahren	17
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	20
3.1. Material und Methoden	20
3.1.1. Untersuchte Tiere	20
3.1.2. Unterbringung und Fütterung	20
3.1.3. Verwendete Amoxicillin-Firmenpräparate	21
3.1.4. Berechnung der Dosis	22

	Seite
3.1.5. Behandlung mit Amoxicillin	22
3.1.5.1. Oral	22
3.1.5.2. Intramuskulär	23
3.1.5.3. Subcutan	23
3.1.6. Bestimmung der Amoxicillin-Konzentration im Plasma	23
3.1.6.1. Probengewinnung	23
3.1.6.2. Probenaufbereitung	23
3.1.6.3. Standardlösungen und Eichkurve	24
3.1.6.4. Fluoreszenzmessung	25
3.1.7. Bestimmung der Amoxicillin-Konzentration im Gewebe	27
3.1.7.1. Probengewinnung	27
3.1.7.2. Probenaufbereitung	27
3.1.7.3. Standardlösungen und Eichkurve	27
3.1.7.4. Agardiffusionstest	28
3.1.8. Berechnung der exponentiellen Verlaufskurven und der Halbwertszeit von Amoxicillin	30
3.1.9. Infektionsstamm	31
3.1.10. Organkulturen	31
3.1.11. Histologische Untersuchungen	31
3.2. Ergebnisse	32
3.2.1. Plasmakonzentration beim gesunden Tier	32
3.2.1.1. Behandlung mit 45 mg Amoxicillin-Trihydrat- Pulver pro Taube peroral	32
3.2.1.2. Behandlung mit 100 mg/kg Amoxicillin-Natrium- Lösung intramuskulär	36
3.2.1.3. Behandlung mit 100 mg/kg Amoxicillin-Tri- hydrat-Suspension intramuskulär	36
3.2.1.4. Behandlung mit 100 mg/kg Amoxicillin-Tri- hydrat-Suspension subcutan	38
3.2.1.4.1. Einmalige Behandlung	38
3.2.1.4.2. Dreimalige Behandlung im Ab- stand von 24 Stunden	42
3.2.2. Gewebekonzentration beim gesunden Tier	44
3.2.3. Histologie	46

	Seite
3.2.4. Plasmakonzentration beim mit Salmonellen infizierten Tier	46
3.2.5. Gewebekonzentration bei mit Salmonellen infizierten Tieren	50
3.2.6. Organkulturen	50
4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	52
5. ZUSAMMENFASSUNG	59
Summary	60
Resumen	61
6. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	62
7. LITERATURVERZEICHNIS	63

1. EINLEITUNG

Ein Problem der heutigen Vogelpraxis ist, daß viele veterinärmedizinische Arzneimittelspezialitäten nicht ausreichend auf ihre Wirkung beim Vogel hin untersucht sind; da die Zulassung dieser Mittel vom Hersteller nicht für die Anwendung am Vogel beantragt ist, liegen auch keine Dosierungsempfehlungen vor. Aufgrund der von den Verhältnissen beim Säugetier stark abweichenden Stoffwechsellaage des Vogels ist jedoch eine Übertragung von Forschungsergebnissen und daraus abgeleiteten Dosierungsempfehlungen in den seltensten Fällen möglich. Es ist somit notwendig, für die Vogelpraxis interessant erscheinende Arzneimittel direkt am Vogel zu untersuchen.

Bakteriell bedingte Infektionskrankheiten spielen in der Vogelpraxis eine bedeutende Rolle. Es besteht daher ein weites Einsatzgebiet für ein Antibiotikum, das den Forderungen nach breitem Wirkungsspektrum, geringer oder fehlender Toxizität, leichter Dosierbarkeit und möglichst lang anhaltendem Wirkspiegel nahe kommt. Ein Arzneimittel, das diese Forderungen möglicherweise erfüllt, ist aus der Gruppe der halbsynthetischen Penicilline das Amoxicillin. Seine Wirksamkeit und seine Pharmakokinetik sind beim Menschen und bei verschiedenen Säugetieren hinreichend untersucht. Die in der internationalen Literatur zu findenden Berichte über Untersuchungen mit Amoxicillin beim Vogel sind dagegen wenig umfassend und teilweise widersprüchlich.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es nun, aus den verschiedenen im Handel erhältlichen Amoxicillin-Formulierungen eine Dosierung zu erarbeiten, die beim Fehlen toxischer Erscheinungen einen sicheren Wirkspiegel über 24 Stunden erbringt. Die Forderung nach dem 24-Stunden-Wirkspiegel ergibt sich aus der Notwendigkeit eines Dosierungsintervalls, das zur Vermeidung zusätzlicher Kosten die Behandlung im Rahmen der üblichen Sprechstundenzeiten erlaubt. Als Untersuchungstier bietet sich die Taube an, da sie bedingt durch die große Zahl privater Taubenzüchter zahlenmäßig gleich nach dem Wirtschaftsgeflügel einen führenden Platz in der Vogelpraxis einnimmt.

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführten Untersuchungen hatten zum Ziel, einen sicher wirksamen Blut- oder Gewebespiegel von Amoxicillin bei der gesunden und bei der spezifisch geschädigten Taube nachzuweisen; sie waren von der Methodik her nicht als Untersuchungen auf Arzneimittelrückstände im Sinne des Lebensmittelgesetzes ausgelegt und sind daher auch nicht als solche zu verstehen.

2. LITERATUR

2.1. Geschichte

Seit der Einführung des Benzylpenicillins Anfang der 40er Jahre wurde versucht, durch Veränderung der Seitenkette des Penicillin-Moleküls die damals relativ unbefriedigende Pharmakokinetik und das Wirkungsspektrum positiv zu beeinflussen. Diese Bemühungen führten zur Entwicklung der säurefesten und damit oral verabreichbaren Penicilline (z.B. Penicillin V, Pheneticillin, Propicillin) und der penicillinasefesten Penicilline (Methicillin, Oxacillin, Dicloxacillin). Anfang der 60er Jahre wurde mit dem Ampicillin das erste Breitspektrumpenicillin eingeführt. Sein Wirkungsspektrum umfaßt neben dem des Penicillin G Enterokokken, Listerien, Escherichia coli, Proteus mirabilis, Salmonellen, Shigellen, Haemophilus influenzae und Bordetella pertussis.

Im Jahr 1970 schließlich wurde von den Beecham Research Laboratories ein Penicillin synthetisiert, das im Wirkungsspektrum weitgehend dem Ampicillin gleicht, jedoch günstigere pharmakokinetische Eigenschaften aufweist. Dieses Penicillin wurde im November 1973 unter dem Stoffnamen Amoxicillin in der Bundesrepublik Deutschland registriert (ROLINSON, 1973).

2.2. Pharmakologie

2.2.1. Struktur

Amoxicillin (synonyme Schreibweise Amoxycillin, Amoxicilline) besteht aus dem allen Penicillinen gemeinsamen, aus einem β -Lactam-Ring und einem Thiazolidinring bestehenden sogenannten "Penicillin-kern", der 6-Amino-Penicillansäure, sowie einer Seitenkette.

Die chemische Bezeichnung für Amoxicillin lautet (-)-6-(2-Amino-2-(p-hydroxy-phenyl) acetamido) penicillansäure oder etwas einfacher auch $\downarrow$ -amino-p-hydroxy-benzylpenicillin.

Die Strukturformel von Amoxicillin ist in Abb. 1 angegeben.

R = H : Amoxicillin-Säure

R = Na : Amoxicillin-Salz

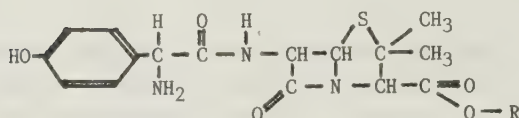


Abb. 1 Strukturformel von Amoxicillin (DINNENDAHL und FRICKE, 1982)

Amoxicillin ist erhältlich als schwerlösliches Säure-Trihydrat mit der Summenformel $C_{16}H_{19}N_3O_5S \cdot 3 H_2O$ (Molekulargewicht 419,5) zur oralen Verabreichung und für stabile Suspensionen zur Injektion. Das leichtlösliche Amoxicillin-Natrium-Salz mit der Summenformel $C_{16}H_{18}N_3O_5S Na$ (Molekulargewicht 387,4) wird zur Injektion und zur Herstellung von Lösungen zur Infusion verwendet (DINNENDAHL und FRICKE, 1982; ROLINSON, 1973).

2.2.2. Chemisch-Physikalische Eigenschaften

Amoxicillin ist ein weißes oder fast weißes kristallines Pulver mit schwachem, typisch penicillinartigem Geruch (DINNENDAHL und FRICKE, 1982). Seine Löslichkeit bei 20° C wird wie folgt angegeben:

	R - H	R - Na
1 g Amoxicillin lößt sich in (ml):		
H ₂ O	400	0,72
Methanol	200	0,95
Äthanol	1000	9,09
Isopropanol	unlöslich	303,03
Diäthyläther	schlecht löslich	unlöslich
Chloroform	" "	"
Aceton	" "	"

Der pH-Wert einer 0,2 %igen wässrigen Lösung von Amoxicillin-Trihydrat beträgt 3,5 bis 5,5; eine 10 %ige wässrige Lösung von Amoxicillin-Natrium besitzt einen pH-Wert von 8,0 bis 10,0.

Die Haltbarkeit der Trockensubstanz beträgt bei Zimmertemperatur (25° C) je nach Darreichungsform zwischen 18 Monaten und 4 Jahren. Wässrige Lösungen des Natrium-Salzes zur Injektion sind jedoch nur 6 Stunden haltbar (DINNENDAHL und FRICKE, 1982; ANONYM, 1983).

2.3. Wirkung

2.3.1. Wirkungsmechanismus

Der Wirkungsmechanismus des Amoxicillins entspricht weitgehend dem anderer Penicilline und Cephalosporine; Amoxicillin stört den Aufbau der Bakterien-Zellwand, indem es die Synthese des Mureins blockiert.

Das Makromolekül Murein besteht aus linearen Ketten von abwechselnd N-Acetylglucosamin und N-Acetylmuraminsäure, die durch kurze Peptidketten quer miteinander verknüpft sind. Amoxicillin hemmt nun kompetitiv die zur Querverknüpfung notwendige Transpeptidase. Dadurch erhält die Zellwand des wachsenden Keimes nur eine unzureichende Festigkeit und kann dem steigenden Innendruck der Bakterienzelle nicht mehr standhalten. Es kommt zu Aussackungen der Zellmembran, sogenannte Sphäroblasten-Bildung, und schließlich zum Platzen der Zelle. Es läßt sich hieraus ableiten, daß Amoxicillin nur bei wachsenden Keimen bakterizid wirkt und daß ruhende Keime weitgehend unbeeinflußt bleiben (degenerativ bakterizider Wirkungstyp) (ESTLER, 1983; YEOMAN, 1977 a; DINNENDAHL und FRICKE, 1982).

2.3.2. Wirkungsspektrum

Das klassische Wirkungsspektrum der Penicilline umfaßt vorwiegend gram-positive Keime. Dies ist zum einen damit zu erklären, daß der Angriffspunkt der Penicilline, das Murein, bei gram-positiven Keimen einen wesentlich größeren Anteil an der Zellwand bildet als

bei gram-negativen (ESTLER, 1983). Zum anderen ist die Mureinschicht bei ersteren relativ leicht zugänglich, während sie bei letzteren gut geschützt an der Innenseite der Zellwand liegt (YEOMAN, 1977 a). Mit dem Ampicillin und später dem Amoxicillin ist es jedoch gelungen, die Wirkung auf eine ganze Reihe gram-negativer Keime auszudehnen. Amoxicillin ist somit ein echtes Breitspektrum-Antibiotikum.

SUTHERLAND (1973) gibt für Amoxicillin die folgenden minimalen Hemm-Konzentrationen an:

Keim	MHK in µg/ml
Staphylococcus aureus NCTC 6571	0,1
Staphylococcus aureus (Penicillinase bildend)	250
β-hämolysierende Streptokokken	0,01
α-hämolysierende Streptokokken	0,01
Streptococcus pneumoniae	0,05
Streptococcus faecalis	0,5
Bacillus anthracis	0,25
Corynebacterium diphtheriae	0,02
Erysipelothrix rhusiopathiae	0,02
Listeria monocytogenes	0,1
Clostridium tetani	0,05
Bacteroides fragilis	25
Brucella abortus	0,25
Bordetella pertussis	0,5
Haemophilus influenzae	0,25
Neisseria gonorrhoeae	0,01
Neisseria meningitidis	0,02
Pasteurella septica	0,5
Escherichia coli NCTC 10418	5,0
Salmonella typhi	1,25
Shigella sonnei	2,5
Klebsiella aerogenes	250
Enterobacter aerogenes	250

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>500
<i>Proteus mirabilis</i>	2,5
<i>Proteus</i> sp. (Indol-positiv)	250
<i>Serratia marcescens</i>	250
<i>Vibrio cholerae</i>	5,0

KNOTHE (1973) untersuchte eine große Anzahl von Stämmen human-medizinisch bedeutsamer Keime auf ihre Empfindlichkeit gegen Amoxicillin; eine Übersicht gibt Tabelle 1.

YEOMAN (1977 a) teilt veterinärmedizinisch wichtige Keime bezüglich ihrer Empfindlichkeit gegen Amoxicillin in vier Gruppen ein. Dabei umfaßt die Gruppe 1 höchst empfindliche Bakterien, deren MHK unter 0,5 µg/ml liegt. Hierzu gehören im gram-negativen Bereich die Gattungen *Pasteurella*, *Brucella*, *Sphaerophorus*, *Haemophilus* und *Fusiformis* sowie im gram-positiven Bereich Streptokokken, Staphylokokken (nicht Penicillinase-bildend), Clostridien, Corynebakterien, Erysipelothrix und *Bacillus anthracis*. Zur zweiten Gruppe gehören Salmonellen, Treponemen, Moraxellen und *Proteus mirabilis*. Diese Keime werden als hoch empfindlich eingestuft, ihre MHK liegt unter 1,25 µg/ml. Zur dritten Gruppe mit einer MHK bis zu 5 µg/ml gehören die Gattungen *Escherichia* und *Bordetella*; sie werden als noch empfindlich bezeichnet. Die vierte Gruppe schließlich umfaßt die Amoxicillin-resistenten Keime *Pseudomonas*, *Klebsiella*, Indol-positive *Proteus* und Penicillinase-bildende Staphylokokken.

2.3.3. Wirksamkeit

Amoxicillin hat das gleiche Wirkungsspektrum wie Ampicillin, und auch die jeweilige minimale Hemm-Konzentration ist bei den meisten Keimen gleich. Jedoch beobachtete NAKAZAWA (1974), daß die Absterbegeschwindigkeit von empfindlichen *Escherichia coli*-Keimen unter der Einwirkung von Amoxicillin wesentlich höher ist als unter der Wirkung von Ampicillin. Auch die unter der Antibiotikum-Einwirkung beobachteten morphologischen Veränderungen der Bakterien weisen deutliche Unterschiede auf. So scheint Ampicillin in erster Linie die Septen-

Tab. 1 Antibakterielle Aktivität von Amoxicillin gegenüber verschiedenen Keimen (Angaben in Prozent)

Spezies	Zahl der	0,015	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128	µg/ml
Stämme																	
Staphylococcus aureus (nicht Penicillinase bildend)	100			16	96	100											
Streptococcus pyogenes (Gruppe A)	25	52	84	100													
Streptococcus pneumoniae	25		32	56	100												
Streptococcus faecalis	100					16	63	99			100						
Haemophilus influenzae	50			2	24	84	96	100									
Neisseria gonorrhoeae	10		20	50	70	80	100										
Proteus mirabilis	190					2	22	46	76	89			91			9	
Proteus vulgaris	32												12	50		50	
Salmonella typhi	110				3	8	34	80	99							1	
Salmonella paratyphi B	80					1	5	16	81	97	100						
Escherichia coli	290						1	23	72	83		86				14	
Klebsiella	100													3	12	88	
Enterobacter	50									2				6	12	88	

Modifiziert nach KNOTHE (1973)

bildung bei der Teilung des Bakteriums zu verhindern, und es kommt zur Bildung grotesk langer, fadenförmiger Zellen. Dieser Effekt ist jedoch reversibel, und bei Absinken der einwirkenden Ampicillin-Konzentration kann sich das Bakterium normal weiterteilen. Unter der Einwirkung von Amoxicillin hingegen kommt es frühzeitig zur Bildung von Sphäroblasten, was ein sicheres Zeichen für eine irreversible Schädigung des Keims ist (NAKAZAWA, 1974; YEOMAN, 1977 a).

Diese in vitro gemachten Beobachtungen finden ihre Bestätigung durch die in-vivo-Untersuchungen von HUNTER et al. (1973) und COMBER et al. (1977). Beide fanden bei Untersuchungen mit experimentell infizierten Mäusen trotz in vitro ermittelter gleicher MHK für Ampicillin und Amoxicillin einen deutlichen therapeutischen Vorteil für Amoxicillin. Diesen Vorteil führt HUNTER auf die schnellere bakterizide Wirkung zurück. COMBER fand im Bauchhöhlenexsudat unter der Einwirkung einer Amoxicillin-Konzentration, die lediglich ein Viertel der MHK betrug, bereits überwiegend irreversibel geschädigte Keime. Unter der Wirkung von Ampicillin hingegen wurden mehrheitlich relativ stabile fadenförmige Bakterien beobachtet.

2.4. Resistenzen

Primär resistente Stämme werden sowohl bei gram-positiven als auch bei gram-negativen Keimen beobachtet, bei gram-negativen jedoch häufiger. Sekundäre Resistenzen kommen selten vor; da es sich um Mehrstufenresistenzen handelt, entwickeln sie sich nur langsam.

Amoxicillin ist wie viele Penicilline nicht penicillinase-stabil. Es ist daher unwirksam bei allen Keimen, die in der Lage sind, Penicillinase zu bilden (DINNENDAHL und FRICKE, 1982; KNOTHE, 1973).

2.5. Kreuzresistenz

Amoxicillin besitzt eine komplette Kreuzresistenz mit Ampicillin. Eine teilweise Kreuzresistenz besteht mit Carbenicillin, Azlocillin, Mezlocillin sowie mit Cephalosporinen bei einigen gram-negativen Stäbchenbakterien (DINNENDAHL und FRICKE, 1982).

2.6. Synergismus

RUSSELL und SUTHERLAND (1975) und BASKER und SUTHERLAND (1977) untersuchten die Wirkung von Kombinationen aus Amoxicillin und verschiedenen Aminoglycosidantibiotika (Streptomycin, Kanamycin, Gentamycin u.a.) auf Stämme von *Streptococcus viridans*, *Streptococcus bovis* und Enterokokken. Beide kommen übereinstimmend zu dem Ergebnis, daß Amoxicillin und Aminoglycoside synergistisch wirken, wenn der getestete Keim nicht gegen das Aminoglycosidantibiotikum resistent ist.

Es ist jedoch zu beachten, daß bei einer Kombinations-Therapie beide Substanzen getrennt verabreicht werden müssen, da eine chemische Inkompatibilität besteht (ANONYM, 1983).

SUTHERLAND (1973) beschreibt eine synergistische Wirkung auf penicillinase-bildende Keime durch die Kombination von Amoxicillin mit dem penicillinase-festen Flucloxacillin. Ein ähnlicher Effekt wurde in neuerer Zeit auch erzielt durch die Kombination von Amoxicillin mit dem spezifischen Penicillinase-Inhibitor Clavulansäure (Handelsnamen der Kombinationspräparate: Augmentan^R, Synulox^R).

2.7. Antagonismus

Die bakterizide Wirkung des Amoxicillins kann nur bei proliferierenden Keimen voll zum Tragen kommen. Eine gleichzeitige Verabreichung von bakteriostatisch wirkenden Antibiotika oder Chemotherapeutika wie z.B. Chloramphenicol, Tetracyclinen oder Sulfonamiden vermindert daher die Wirksamkeit des Amoxicillins und sollte auf jeden Fall vermieden werden (DINNENDAHL und FRICKE, 1982; FORTH et al., 1980).

Eine chemische Inkompatibilität besteht zwischen Amoxicillin und Metallionen, Aminosäuren, Ascorbinsäure, Vitamin B-Komplex und Heparin; Phenylbutazone und Acetylsalicylsäure verdrängen Amoxicillin aus der Bindung an Serumproteine.

2.8. Pharmakokinetik

2.8.1. Aufnahme

Nach peroraler Verabreichung wird Amoxicillin zu über 90 % vom Darm resorbiert (SPYKER et al., 1977). Die Resorptionsgeschwindigkeit ist dabei dosisabhängig, d.h. höhere Dosen werden relativ langsamer resorbiert und führen somit zu länger anhaltenden Serumspiegeln. Die Gesamt-Resorption hingegen ist nicht von der Dosis abhängig (SPYKER et al., 1977). Weiterhin ist beim Menschen die Resorption von Amoxicillin weitgehend unabhängig vom Füllungszustand des Magen-Darm-Traktes (MIKI, 1974). WATSON und EGERTON (1977) konnten dies bei Untersuchungen an Greyhounds bestätigen; sie fanden, daß die Fütterung praktisch keinen Einfluß auf die Resorption hat. PALMER et al. (1976) beschreiben bei Versuchen mit Beagle-Hunden ebenfalls die überlegene enterale Resorption von Amoxicillin gegenüber Ampicillin.

Nach intramuskulärer oder subcutaner Verabreichung hängt die Geschwindigkeit der Verteilung im Organismus stark von der Darreichungsform ab. Eine wässrige Amoxicillin-Natrium Lösung verteilt sich relativ schnell, eine wässrige Suspension von Amoxicillin-Trihydrat langsamer und eine ölige Suspension am langsamsten (DOWRICK, 1979). Eine intramuskulär verabreichte Amoxicillin-Natrium Lösung führt daher zwar zu sehr hohen Serum-Spitzenwerten, die aber auch schnell wieder absinken; eine Amoxicillin-Trihydrat Suspension hingegen führt zwar nicht zu solchen Spitzenwerten, ergibt jedoch über eine relativ lange Zeit gleichbleibend hohe Serum-Spiegel (YEOMAN, 1977 a).

2.8.2. Verteilung im Organismus

Bei peroraler Verabreichung werden die Spitzenwerte im Serum nach 1 bis 2 Stunden erreicht; sie betragen beim Menschen nach einer Dosis von 7 mg/kg Körpergewicht etwa 6 bis 8 µg/ml (MIKI, 1974; BRANDER, 1977; BUSWELL und PALMER, 1977). In der interstitiellen

Flüssigkeit wird der höchste Wert eine Stunde später erreicht; er liegt etwas niedriger als im Serum (TAN et al., 1974). Die Proteinbindung von Amoxicillin beträgt im Plasma 15 bis 20 % und in der Lymphe 7 bis 9 % (ACRED et al., 1970; TAN et al., 1974).

Die Gewebegängigkeit von Amoxicillin ist wie bei den meisten Penicillinen gut (ESTLER, 1983). Die Konzentrationen in Leber und Niere übersteigen die Serumkonzentrationen (NAKAZAWA, 1974). Sie betragen bei Kälbern nach peroraler Applikation das 1,5 bis 2-fache bzw. 3 bis 10-fache der entsprechenden Serum-Konzentrationen (PALMER et al., 1977). Bei Untersuchungen am Menschen fanden KISS et al. (1981), daß nach intramuskulärer Verabreichung von Amoxicillin der Spiegel im Lebergewebe lediglich 25 %, in der aus den Gallengängen gewonnenen Galle jedoch 125 % des entsprechenden Serumspiegels betrug. Konzentrationen, die höher lagen als die Serumkonzentrationen, fanden PALMER et al. (1977) bei Kälbern nach peroraler Applikation in allen Geweben des Magen-Darm-Traktes.

Konzentrationen, die unter den Serumspiegeln liegen, werden in Milz, Lunge, Haut, Muskel, Fettgewebe, Gehirn und Auge beobachtet (NAKAZAWA, 1974; PALMER et al., 1977; MIKI, 1974). FRICKER et al. (1979) wiesen geringe Konzentrationen im Speichel nach, und AKIMOTO et al. (1982) fanden Amoxicillin in Kieferzysten.

LASHEV und SEMERJIEV (1983) fanden bei Untersuchungen an Hühnern nach peroraler Verabreichung Amoxicillin-Spiegel in Leber, Niere, Lunge, Muskeln, Milz und Herz, die jedoch alle unter den korrespondierenden Serumkonzentrationen lagen.

Die beobachteten Plasma-Halbwertszeiten von Amoxicillin beim Menschen betragen 0,94 bis 1,3 Stunden. Sie weisen nach peroraler und parenteraler Verabreichung keine bedeutenden Unterschiede auf (MIKI, 1974; BROGDEN et al., 1979).

DORRESTEIN et al. (1984) fanden bei Untersuchungen an der Taube im biologischen Hemmstofftest folgende Halbwertszeiten: 0,57 Stunden bei intramuskulärer Applikation, 0,83 Stunden bei intravenöser Applikation und 1,07 Stunden bei peroraler Applikation.

2.8.3. Abbau und Ausscheidung

Amoxicillin zeigt die typischen Abbaureaktionen der Penicilline. Durch hydrolytische Spaltung des β -Lactamringes entsteht als Hauptabbauprodukt die Penicilloinsäure des Amoxicillins (DINNEN-DAHL und FRICKE, 1982; MOLL und ESPERESTER, 1984). Weitere Abbauprodukte entstehen durch Abspaltung der Seitenkette, durch Decarboxylierung der Penicilloinsäure sowie durch Aufspaltung des Thiazolidinringes. Der Ort der Metabolisierung ist die Leber (DINNEN-DAHL und FRICKE, 1982; COLE et al., 1973); hier werden etwa 25 bis 30 % einer verabreichten Amoxicillin-Dosis umgebaut.

Amoxicillin wird in der Niere durch tubuläre Sekretion ausgeschieden; etwa 50 bis 70 % der eingenommenen Amoxicillin-Menge tauchen als unverändertes, wirksames Amoxicillin im Urin wieder auf (NEU, 1974). MASADA et al. (1980) wiesen im Urin neben dem Amoxicillin seine verschiedenen Abbauprodukte nach, die jedoch alle keine antibiotische Wirksamkeit mehr besitzen.

Bei herabgesetzter Nierenfunktion ist die Ausscheidung von Amoxicillin vermindert; eine deutliche Verlängerung der Plasma-Halbwertszeit wird jedoch erst beobachtet, wenn die Kreatinin-Clearance unter 35 ml/min sinkt (CHELVAN et al., 1979).

Amoxicillin taucht auch in Konzentrationen, die in etwa den Serumkonzentrationen entsprechen, in der Galle auf; quantitativ spielt jedoch eine Ausscheidung über die Galle keine Rolle (KISS et al., 1981; CHELVAN et al., 1979).

2.9. Toxizität

Amoxicillin gehört wie andere Penicilline auch zu der Gruppe von Antibiotika, die eine sehr geringe Toxizität aufweisen. Bei oraler Verabreichung beträgt die LD₅₀ bei Maus und Ratte mehr als 5000 mg/kg Körpergewicht, beim Hund sogar mehr als 20.000 mg/kg Körpergewicht.

In Langzeitstudien an Ratten konnten bei einer Dauerverabreichung von täglich bis zu 4000 mg/kg Körpergewicht peroral keine bioche-

mischen, hämatologischen oder histopathologischen Veränderungen festgestellt werden (ANONYM, 1983; JONES und HILL, 1973; KEEFE, 1977).

Die beim Menschen gefürchtete Penicillinallergie, die als vollständige Kreuzallergie alle Penicilline betrifft und bis zum lebensbedrohenden anaphylaktischen Schock führen kann (FORTH et al., 1980), scheint beim Vogel keine Rolle zu spielen. FUDGE (1983) schreibt, daß in der internationalen Literatur keine Berichte über eine Penicillin-Allergie beim Vogel zu finden sind; trotzdem kann seiner Meinung nach die Möglichkeit des Auftretens einer solchen Allergie nicht ausgeschlossen werden.

2.10. Dosierung

In der Humanmedizin reichen die empfohlenen Dosierungen je nach Schwere der Infektion von 3 mal 500 mg bis zu 3 mal 2000 mg täglich; dies entspricht etwa 3 mal 8 mg bis 3 mal 25 mg je Kilogramm Körpergewicht (ANONYM, 1983). BROGDEN et al. (1979) geben für Kinder bis zu 10 Jahren 50 bis zu 400 mg/kg Körpergewicht täglich an.

Bei eingeschränkter Nierenfunktion muß die Dosierung je nach Schweregrad auf bis zu 1000 mg zweimal täglich (entsprechend etwa 2 mal 12 mg/kg Körpergewicht) gesenkt werden (ANONYM, 1983).

Die verschiedenen Dosierungsempfehlungen für die Tiermedizin sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

2.11. Anwendung und Bedeutung in der Humanmedizin

Aufgrund seiner guten enteralen Resorption, seines breiten Wirkungsspektrums und seiner geringen Toxizität ist Amoxicillin heute in der Humanmedizin ein Antibiotikum der ersten Wahl. Bewährt hat sich Amoxicillin bei der Behandlung von Infektionen des unteren Respirationstraktes (MAY und INGOLD, 1974) und der Harnwege (BROGDEN et al., 1979; FIEGEL und HÖFFLER, 1973). In der Pädiatrie wurden mit Amoxicillin bei Erkrankungen des Respirationstraktes und des Gastrointestinaltraktes (BEIN, 1973) sowie bei der Behandlung

Tab. 2 Dosierungsempfehlungen für Amoxicillin

<u>Tierart</u>	<u>Dosis</u>	<u>Intervall</u>	<u>Quelle</u>
Rind	400-800 mg intra- uterin	48 h	YEOMAN, 1977 b
Kalb	400 mg p.o.	12 h	BYWATER et al., 1978
Kalb und Schaf	20 mg/kg i.m.	24 h	LASHEV und DRUMEV, 1983
Kalb und Schaf	30 mg/kg i.m.	48 h	LASHEV und DRUMEV, 1983
Fohlen	20 - 40 mg/kg i.m.	12 - 24 h	YEOMAN, 1977 b
Hund und Katze	4 - 12 mg/kg p.o.	12 h	YEOMAN, 1977 b; FRANCIS et al., 1978
Hund und Katze	2-7 mg/kg i.m./s.c.	24 h	YEOMAN, 1977 b; FRANCIS et al., 1978
Taube	150 mg/kg i.m./i.v.	4 h	DORRESTEIN et al., 1984
Taube	150 mg/kg p.o.	6 h	DORRESTEIN et al., 1984
Schwein und Vogel	30 mg/kg i.m.	24 h	LASHEV und DRUMEV, 1983

der Otitis media (JONES, 1974) gute Erfolge erzielt. KISS et al. (1981) empfehlen Amoxicillin zur Behandlung bakterieller Infektionen der Gallenwege. FRICKER et al. (1979) untersuchten die Möglichkeit der Infektionsprophylaxe nach chirurgischen Eingriffen im Bereich der Mundhöhle durch Amoxicillin, konnten jedoch keine ausreichenden Antibiotikum-Spiegel im Speichel nachweisen.

Außer dem bisher genannten geben die verschiedenen Hersteller noch folgende Indikationen für Amoxicillin an:

Sinusitis, Tonsillitis sowie, eventuell in Kombination mit einem anderen geeigneten Antibiotikum, Meningitis, Endocarditis, Osteomyelitis und Septikämie.

2.12. Anwendung und Bedeutung in der Tiermedizin

YEOMAN (1977 b) und FRANCIS et al. (1978) berichten über Feldversuche mit Amoxicillin in der Kleintierpraxis; die Indikationen waren unter anderem Enteritis, Gastritis, Abszesse, Zwingerhusten, Metritis, Vaginitis und Tonsillitis. Beide Autoren geben die Behandlungs-Erfolgsquoten fast durchwegs mit über 80 % an.

Beim Mastitis-Metritis-Agalactie Komplex des Schweines wird Amoxicillin mit ausgezeichnetem Erfolg eingesetzt (LENSCH, 1982; YEOMAN, 1977 b). PALMER et al. (1977) und BYWATER et al. (1978) untersuchten die Einsatzmöglichkeit für Amoxicillin bei Kälberdurchfall; sie berichten über sehr gute klinische Erfolge (84 %) trotz oftmals negativem Antibiotogramm.

ZIV und NOUWS (1979) und HANSON (1977) beschäftigten sich mit der Verwendung von Amoxicillin bei der Mastitis des Rindes. Aufgrund von Spiegelbestimmungen in der Milch kamen ZIV und NOUWS zu dem Schluß, daß eine systemische Verabreichung von Amoxicillin zur Behandlung der Mastitis ungeeignet sei. Dagegen berichtet HANSON über gute Ergebnisse mit Amoxicillin bei der Euterinstillation.

LOVE et al. (1981) bestimmten die Amoxicillin-Serumspiegel beim Fohlen nach peroraler Verabreichung und schlossen, daß Amoxicillin beim Fohlen als Breitspektrum-Antibiotikum ungeeignet sei, da die gefundenen Spiegel für die meisten beim Fohlen pathogenen Keime zu nieder liegen. Dem widersprechen jedoch die Ergebnisse von YEOMAN (1977 a), der beim Fohlen nach parenteraler Gabe einer Amoxicillin-Trihydrat Suspension wesentlich höhere Spiegel über längere Zeit fand.

Berichte über klinische Erfahrungen mit Amoxicillin beim Vogel liegen derzeit nicht vor.

Die Firma Beecham-Wülfig Abt. Beecham Tiergesundheit gibt für ihr Amoxicillin-Präparat Clamoxyl^R ad us. vet. folgende Indikationen an:

Infektionen der Lunge und der Atemwege, Infektionen des Magen-Darm-Traktes, Infektionen im Urogenitalbereich, lokalisierte Infektionen an Haut und Ohren, bakterielle Sekundärinfektionen

bei Viruserkrankungen, allgemeine Infektionen wie Gelenk- und Nabelinfektionen bei Kälbern, akute Mastitis bei Rindern, Agalactie und Rotlauf bei Sauen.

2.13. Nachweisverfahren

Bei den Methoden zur quantitativen Bestimmung von Antibiotika in Blut- oder Gewebeproben kann man prinzipiell zwischen mikrobiologischen und physikalisch-chemischen Verfahren unterscheiden. Für die Bestimmung des Amoxicillin-Gehaltes kommen im einzelnen folgende Methoden in Frage:

- 1.) Mikrobiologischer Nachweis
- 2.) Modifizierte Quecksilbermethode
- 3.) Fluoreszenz-photometrische Bestimmung
- 4.) Hochdruckflüssigkeitschromatographie

ad 1.)

Der mikrobiologische Nachweis von Antibiotika wird meist als Agardiffusionstest durchgeführt. Hierzu wird eine antibiotikum-haltige Probe auf einen sporen- oder keimhaltigen Agar aufgebracht; das Antibiotikum diffundiert nun in Abhängigkeit von seiner Konzentration in der Probe eine bestimmte Strecke in den Agar hinein und hemmt dort das Wachstum des Testkeimes. Nach dem Bebrüten wird diese Strecke als Hemmhof sichtbar.

Die quantitative Erfassung der Antibiotikum-Konzentration ist möglich, da eine Beziehung zwischen Hemmhofdurchmesser und Antibiotikum-Konzentration besteht in der Form

$$y = a + b \cdot \ln x$$

wobei y der Hemmhofdurchmesser und x die Antibiotikum-Konzentration ist.

Als geeignete Testkeime für den Nachweis von Amoxicillin kommen Stämme von *Sarcina lutea*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus calidolactis* oder *Bacillus subtilis* in Betracht.

Der Nachteil des mikrobiologischen Nachweises ist, daß er mit relativ vielen Fehlerquellen behaftet ist und daß außer dem zu un-

tersuchenden Antibiotikum alle anderen möglicherweise in der Probe enthaltenen Hemmstoffe mit nachgewiesen werden und somit das Ergebnis verfälschen können. Der Vorteil des mikrobiologischen Nachweises liegt in seiner einfachen Durchführbarkeit und in seinem geringen apparativen Aufwand.

Geeignete Versuchsbedingungen für den mikrobiologischen Nachweis von Amoxicillin werden an verschiedenen Stellen beschrieben (KISS et al., 1981; AKIMOTO et al., 1982; HAMILTON, 1980).

ad 2.)

Nach Versetzen einer Amoxicillin-haltigen Probe mit einer Imidazol/Quecksilber-II-Chlorid Lösung wird die Extinktion bei 308 nm gemessen; die Amoxicillin-Konzentration wird dann anhand einer Eichkurve bestimmt.

Die Methode ist relativ einfach durchzuführen; ihr Nachteil liegt darin, daß eine hinreichende Genauigkeit erst gegeben ist, wenn der Amoxicillin-Gehalt der Probe mindestens 6 µg/ml beträgt (MOLL und ESPERESTER, 1984).

ad 3.)

Als Fluoreszenz bezeichnet man die Fähigkeit eines Atoms oder Moleküls, Licht einer bestimmten Wellenlänge zu absorbieren und innerhalb sehr kurzer Zeit als ein Photon größerer Wellenlänge wieder abzugeben (GERTHSEN et al., 1974). Fluoreszenz ist mit einem Fluoreszenzphotometer quantitativ erfaßbar; hierzu wird die zu untersuchende Probe mit einem Licht definierter Wellenlänge bestrahlt und das im rechten Winkel zum einfallenden Licht abgestrahlte Licht, das ebenfalls eine definierte Wellenlänge besitzt, gemessen.

Amoxicillin selbst weist nur eine sehr schwache Fluoreszenz auf; wird es jedoch einer alkalischen Hydrolyse unterzogen, so entsteht ein stark fluoreszierendes Abbauprodukt. Die Fluoreszenzintensität dieses Abbauproduktes steht in einem linearen Zusammenhang mit der Amoxicillin-Konzentration in der Ausgangs-Probe.

Die Versuchsbedingungen zur fluoreszenz-photometrischen Bestim-

mung von Amoxicillin wurden von verschiedenen Autoren modifiziert (DAVIDSON, 1976; MIYAKAZI et al., 1977; BARBHAIYA et al., 1977). Die Methode ist einfach durchzuführen und führt zu genauen Ergebnissen bei Amoxicillin-Konzentrationen zwischen 0,24 und 70 $\mu\text{mol/l}$ ($\approx$ 0,1 bis 25,5 $\mu\text{g/ml}$) (BARBHAIYA et al., 1977).

ad 4.)

Die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC, high pressure liquid chromatography) ist das zur Zeit wohl modernste Verfahren zur Bestimmung von Amoxicillin. Sie erbringt genaue Ergebnisse und ist relativ einfach und schnell durchzuführen. Ihr größter Nachteil ist der sehr hohe apparative Aufwand.

Geeignete Versuchsbedingungen zur Messung von Amoxicillin-Konzentrationen mit HPLC werden von verschiedenen Autoren angegeben (VREE et al., 1978; MASADA et al., 1980; MOLL und ESPERESTER, 1984).

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Untersuchte Tiere

In die verschiedenen Prüfungen wurden insgesamt 85 Tauben (*Columba livia* Gmel., 1789 var. *domestica*) einbezogen. Das Körpergewicht der untersuchten Tiere lag zwischen 295 g und 615 g wobei der größte Teil der Tiere zwischen 300 g und 400 g wog. Es waren alle Altersklassen vertreten, ein Teil der Tiere befand sich zeitweise in Reproduktion.

Die Tiere waren klinisch gesund; vor Versuchsbeginn wurden sie untersucht auf Antikörper gegen aviäres Paramyxovirus I (Paramyxovirus-Infektion der Taube) und gegen *Salmonella typhimurium*. Weiterhin wurde der Kot auf Salmonellen und auf Darmparasiten untersucht. Tiere mit einem Antikörpertiter gegen aviäres Paramyxovirus I oder gegen *Salmonella typhimurium* wurden nicht in die Untersuchungen einbezogen; Salmonellenausscheider wurden nicht beobachtet.

Tiergruppen, bei denen teilweise im Kropfabstrich Trichomonaden nachzuweisen waren, wurden 6 Tage lang mit Duodegran^R behandelt.

Bei Tieren, die mehrmals verwendet wurden, wurde zwischen den einzelnen Untersuchungen ein Mindestabstand von 14 Tagen eingehalten.

Alle Tiere wurden nach Abschluß der Untersuchungen getötet.

3.1.2. Unterbringung und Fütterung

Die untersuchten Tiere wurden in Gruppen von 6 bis 10 Tieren in Drahtkäfigen verschiedener Bauart gehalten. Alle Käfige waren mit einem Drahtboden ausgestattet; die Grundfläche der Käfige betrug zwischen 0,6 x 0,8 m und 0,7 x 1,0 m, die Höhe zwischen 30 und 50 cm.

Die Tiere erhielten ein Tauben-Körner-Alleinfutter (Natural Standard, Firma Gebr. de Scheemaecker, Belgien) und Grit (Natural Grit, gleiche Firma) ad libitum sowie frisches Trinkwasser ad libitum.

Als Beleuchtung diente natürliches Tageslicht.

3.1.3. Verwendete Amoxicillin-Firmenpräparate

In den verschiedenen Versuchen kamen folgende Amoxicillin-Firmenpräparate zur Anwendung:

1.) Clamoxyl^R- Pulver für Tiere

1 g Pulver enthält 114,81 mg Amoxicillin-Trihydrat entsprechend 100 mg Amoxicillin; Clamoxyl-Pulver ist in Abpackungen zu 48 g und zu 200 g erhältlich.

Das Pulver wurde vor der Behandlung abgewogen und in magenlösliche Gelatine kapseln mit 1,0 ccm Inhalt (Capsulae operculatae, Firma G. Pohl-Boskamp GmbH & Co, Hohenlockstedt) abgefüllt.

2.) Clamoxyl^R - Injektion 500 mg

Eine Injektionsflasche enthält als Trockensubstanz 530,1 mg Amoxicillin-Natrium, entsprechend 500 mg Amoxicillin.

Die Trockensubstanz wurde stets unmittelbar vorder Behandlung in 5 ml Aqua pro inj. aufgelöst; die Konzentration der fertigen Lösung betrug somit 10 %.

3.) Clamoxyl^R - 15 % Suspension zur Injektion

1 ml Suspension enthält 172,21 mg Amoxicillin-Trihydrat, entsprechend 150 mg Amoxicillin. Clamoxyl^R - Suspension ist in Injektionsflaschen zu 100 ml erhältlich.

Die Suspension wurde unmittelbar vor der Injektion mit steriler Kanüle aus der Injektionsflasche entnommen.

Der Hersteller aller drei verwendeter Amoxicillin-Zubereitungen ist die Firma Beecham-Wülfig GmbH & Co. KG, Neuss.

Vom Hersteller werden folgende Wartezeiten angegeben:

ad 1.) Eßbares Gewebe Kalb:	11 Tage
Eßbares Gewebe Schwein:	3 Tage

ad 2.) Es wurde in den Versuchen ein humanmedizinisches Präparat verwendet, für das keine Wartezeiten festgesetzt sind.
Für das chemisch identische veterinärmedizinische Präparat Clamoxyl^R soluble werden je nach Tierart und Applikationsart (i.v., i.m., s.c.) zwischen 1 und 3 Tagen für die Milch und zwischen 5 und 16 Tagen für eßbares Gewebe angegeben.

ad 3.) Milch:	3 Tage
Eßbares Gewebe:	28 Tage
Injektionsstelle:	50 Tage

3.1.4. Berechnung der Dosis

Die Tiere wurden jeweils am Tag vor dem Versuch auf einer Haushaltswaage mit Digitalanzeige (Soehnle) auf 1 g genau gewogen.

Bei den Versuchen, bei welchen Amoxicillin-Präparate injiziert wurden, erfolgte die Berechnung der erforderlichen Dosis individuell nach Körpergewicht gerundet auf 1/100 ml; bei der peroralen Verabreichung von Amoxicillin-Pulver in Gelatinekapseln erhielten alle Tiere aus praktischen Erwägungen die gleiche Menge.

3.1.5. Behandlung mit Amoxicillin

3.1.5.1. Oral

Für die orale Behandlung wurde Clamoxyl^R - Pulver verwendet, das zuvor abgewogen und in Gelatinekapseln mit 1,0 ccm Inhalt (Capsulae operculatae, Firma G. Pohl-Boskamp GmbH & Co., Hohenlockstedt) abgefüllt worden war.

Die Kapseln wurden den Tauben mit Hilfe einer Pinzette in den

Kropf eingelegt.

3.1.5.2. Intramuskulär

Für die intramuskuläre Behandlung wurden die Präparate Clamoxyl^R-Injektion und Clamoxyl^R - 15 % Suspension verwendet. Die Injektion erfolgte unter Verwendung steriler Einmalknänülen und Einmalspritzen in den Musculus pectoralis profundus (POHLMAYER und WISSDORF, 1976).

3.1.5.3. Subcutan

Für die subcutane Behandlung wurde lediglich das Präparat Clamoxyl^R-15 % Suspension verwendet. Die Injektion erfolgte mit sterilen Einmalknänülen und Einmalspritzen unter die Haut in der Nackengegend. Um ein Zurücklaufen des Präparates von der Injektionsstelle zu vermeiden, wurde die Haut vor dem Einstich etwas verschoben.

3.1.6. Bestimmung der Amoxicillin-Konzentration im Plasma

3.1.6.1. Probengewinnung

Die Blutentnahme erfolgte aus der Vena cutanea ulnaris mit sterilen Sicherheits-Monovetten^R mit NH₄-Heparin der Firma Sarstedt.

Bei jeder Probe wurden etwa 1,5 ml bis 2 ml Blut entnommen; anschließend wurde das Blut in den Monovetten bei 1300 g 15 Minuten lang zentrifugiert.

Für die weitere Aufarbeitung wurden nach dem Zentrifugieren 0,5 ml Plasma entnommen und in sterile Einmal-Plastikröhrchen überführt.

3.1.6.2. Probenaufbereitung

Die Aufbereitung der Plasmaproben erfolgte in Anlehnung an die von BARBHAIYA et al. (1977) beschriebene Methode.

Zunächst wurden 0,5 ml Plasma mit 0,5 ml einer 10 %igen (Gewicht/Volumen) Trichloressigsäure versetzt. Nach gründlicher Durchmischung

wurden die Proben 10 Minuten lang bei 1300 mal g zentrifugiert. Anschließend wurden 0,5 ml des klaren Überstandes in Einmal-Plastikröhrchen mit Schraubverschluß (Firma Greiner, Nr. 163160) überführt und 0,5 ml einer 0,05 molaren NaOH zugesetzt.

Nach dichtem Verschließen wurden die Röhrchen 90 Minuten lang in einem kochenden Wasserbad erhitzt.

Die anschließend in einem kalten Wasserbad wieder abgekühlten Proben wurden schließlich noch mit 1,0 ml Ethylenglycol-Monomethylether (2-Methoxy-Äthanol) versetzt und konnten dann für die Fluoreszenzmessung verwendet werden.

3.1.6.3. Standardlösungen und Eichkurve

Zur Standardlösungen wurde zunächst eine Verdünnungsreihe von Amoxicillin-Natrium (Clamoxyl^R-Injektion) hergestellt. Die einzelnen Stufen der Verdünnungsreihe wurden im Verhältnis 1 : 10 gepooltem Plasma von unbehandelten Tauben zugesetzt, so daß man 0,5 ml große Plasmaproben mit den Amoxicillin-Konzentrationen 50, 20, 10, 5, 1 und 0 µg/ml erhielt. Diese Standardproben wurden dann in genau gleicher Weise aufbereitet wie die zu untersuchenden Testproben.

Über den Meßbereich besteht ein linearer Zusammenhang zwischen relativer Fluoreszenzintensität und Amoxicillin-Konzentration in der Ausgangsprobe in der Form

$$y = a + b \cdot x$$

wobei y für die Fluoreszenzintensität und x für die Amoxicillin-konzentration steht.

Die Berechnung der Eichgerade aus den Meßwerten der Standardproben (x_i/y_i) erfolgte nach der Formel

$$b = \frac{\sum x_i y_i - \frac{\sum x_i \sum y_i}{n}}{\sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n}}$$

$$a = \left[\frac{\sum y_i}{n} - b \frac{\sum x_i}{n} \right]$$

mit Hilfe des Programmes "Curve Fitting" auf einem HP 97 (Firma Hewlett & Packard) Tischrechner.

Die Berechnung der Amoxicillin-Konzentrationen in den zu untersuchenden Proben erfolgte dann einfach anhand der ermittelten Eichgerade.

Die Standardlösungen wurden für jede Meßreihe wieder frisch angesetzt, um die Feineinstellung des Fluoreszenz-Photometers genau vornehmen zu können.

3.1.6.4. Fluoreszenzmessung

Die Messung der Fluoreszenz erfolgte mit einem Perkin-Elmer MPF 4 Fluoreszenz-Photometer, das mit einer Xenon-Lampe ausgerüstet war. Für die Messungen wurden teilweise Küvetten mit 4 ml Inhalt und teilweise Mikroküvetten mit 0,2 ml Inhalt verwendet. Beide Küvettenarten hatten einen quadratischen Querschnitt und bestanden aus plan-geschliffenem Quarzglas.

Die Excitation erfolgte bei einer Wellenlänge von 354 Nanometer und einer Spaltbreite von 8 Nanometer; die Emissionsmessung im Winkel von 90° zum einfallenden Licht wurde bei 430 Nanometer und einer Spaltbreite von 14 Nanometer durchgeführt.

Die Empfindlichkeitseinstellungen am Verstärker und am Schreiber wurden so gewählt, daß jeweils eine Konzentration von 20 µg/ml einer relativen Fluoreszenzintensität von 95 bis 100 % entsprach. Für die Messung von Konzentrationen über 20 µg/ml wurde eine andere Einstellung vorgenommen; hier entsprach eine Konzentration von 50 µg/ml einer relativen Fluoreszenzintensität von etwa 50 %.

Jede Probe wurde 40 Sekunden lang gemessen; der Schreiberausdruck wurde dann über die Meßzeit gemittelt und die relative Fluoreszenzintensität (Meßbereich 0 % bis 100 %) auf 0,25 % genau abgelesen.

Die Berechnung der Amoxicillin-Konzentration erfolgte dann durch Einsetzen der abgelesenen relativen Fluoreszenz-Intensität in die Gleichung der ermittelten Eichgerade.

Abb. 2 zeigt ein Beispiel einer Eichgerade zur Bestimmung der Amoxicillin-Spiegel im Plasma durch Fluoreszenzmessung.

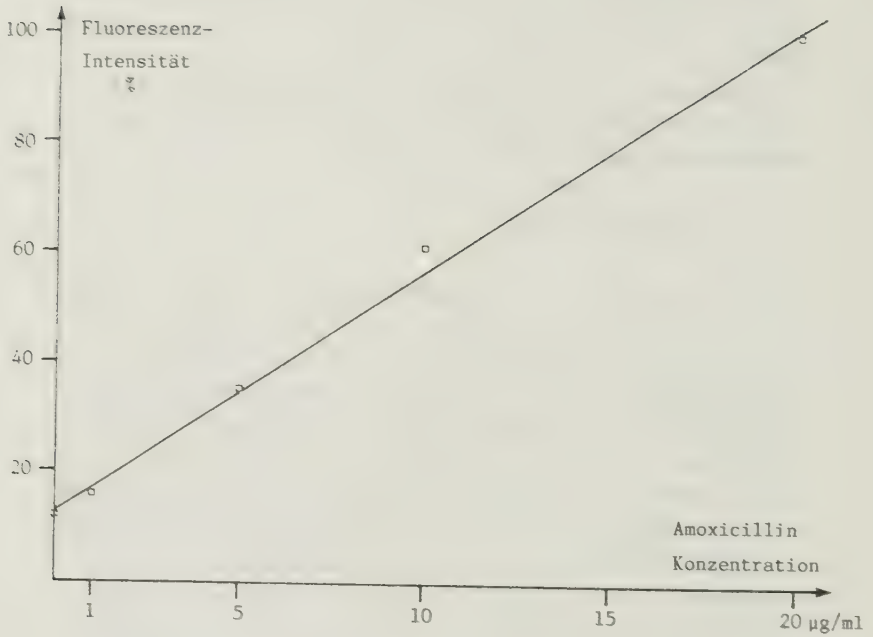


Abb. 2 Eichgerade zur Amoxicillin-Spiegelbestimmung mit Fluoreszenz-messung

3.1.7. Bestimmung der Amoxicillin-Konzentration im Gewebe

3.1.7.1. Probengewinnung

Die zur Bestimmung der Gewebespiegel ausgewählten Tiere wurden mechanisch betäubt und anschließend durch Blutentzug getötet. Bei der darauf folgenden Sektion wurde eine jeweils 0,5 g bis 1 g schwere Probe von Leber, Niere, Lunge, Brustmuskel und Gehirn entnommen.

3.1.7.2. Probenaufbereitung

Die frischen Gewebeproben wurden auf einer Analysenwaage auf 1/100 g genau gewogen und dann mit der doppelten Menge eines Phosphat-Puffers, pH 6, (Zusammensetzung: 2,69 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$, 14,30 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, Aqua dest. ad 1000 ml) versetzt. Daraufhin wurden die Proben mit einem Ultra-Turrax bei 20.000 Umdrehungen/min. homogenisiert, in Einmal-Plastikröhrchen überführt und 10 Minuten bei 1300 mal g zentrifugiert.

Der von groben Gewebeteilen freie Überstand wurde für die Durchführung des Agar-Diffusionstestes verwendet.

3.1.7.3. Standardlösungen und Eichkurve

Zur Herstellung von Standardlösungen für den Agar-Diffusionstest wurden 500 mg Amoxicillin-Natrium (Clamoxyl^R-Injektion) in 5 ml Aqua dest. aufgelöst. Durch Verdünnung in Phosphat-Puffer, pH 6, wurden Lösungen mit folgenden Konzentrationen hergestellt: 10 µg/ml, 5 µg/ml, 2,5 µg/ml, 1,25 µg/ml, 0,625 µg/ml und 0,3125 µg/ml.

Jede Standardlösung wurde in vierfacher Ansatz auf Testplatten ausgebracht, die gemessenen Hemmhof-Durchmesser wurden gemittelt.

Die Berechnung der Eichkurven erfolgte mit Hilfe des Programmes "Curve Fitting" auf einem HP 97 Tischrechner nach folgenden Formeln:

$$b = \frac{\sum y_i \ln x_i - \frac{1}{n} \sum \ln x_i \sum y_i}{\sum (\ln x_i)^2 - \frac{1}{n} (\sum \ln x_i)^2}$$

$$a = \frac{1}{n} (\sum y_i - b \sum \ln x_i)$$

3.1.7.4. Agardiffusionstest

Die Durchführung des Agardiffusionstestes erfolgte in Anlehnung an die von HAMILTON (1980) beschriebene Methode.

Zur Herstellung der Platten wurden 5,75 g Nutrient Agar (DIFCO Nr. 0001-01-8) eingewogen und in 250 ml Aqua dest. aufgelöst. Nach dem Autoklavieren wurde der Agar auf etwa 50° bis 55° C abgekühlt; dann wurden 0,25 ml *Bacillus subtilis* (BGA)-Sporensuspension (Merck, Artikel Nr. 10649, eingestellt auf 10⁷ KBE/ml) zugegeben und gut mit dem Agar vermischt. Auf jede Platte (Plastik Petrischalen mit Deckel, Ø 8,5 cm, Firma Greiner) wurden 15 ml Agar ausgegossen; um eine gleichmäßige Schichtdicke auf der ganzen Platte zu gewährleisten erfolgte das Ausgießen und Erstarren des Agars auf einem nivellierten Brett.

Die Aufbewahrung der Platten erfolgte bis zur Verwendung innerhalb der nächsten 1 bis 2 Tage im Kühlschrank bei + 4° C.

Der eigentliche Agardiffusionstest wurde als Blättchentest durchgeführt. Dabei wurden Papierblättchen mit 6 mm Durchmesser (Best. Nr. 2668, Firma Schleicher und Schüll, Dassel) in die zu untersuchende Probe bzw. in die Standardlösungen getaucht und anschließend flach auf den Agar gelegt. Es wurden auf jeder Platte 3 Blättchen ausgelegt; jeder Probenansatz erfolgte 3-fach auf 3 verschiedenen Platten, jeder Standardansatz 4-fach auf 4 verschiedenen Platten.

Anschließend wurden die Platten bei 37° C im Brutschrank für 18 bis 24 Stunden bebrütet.

Die Messung der deutlich sichtbaren Hemmhöfe erfolgte mit einer Schublehre auf 1/10 mm genau; die Werte der mehrfach ausgeführten

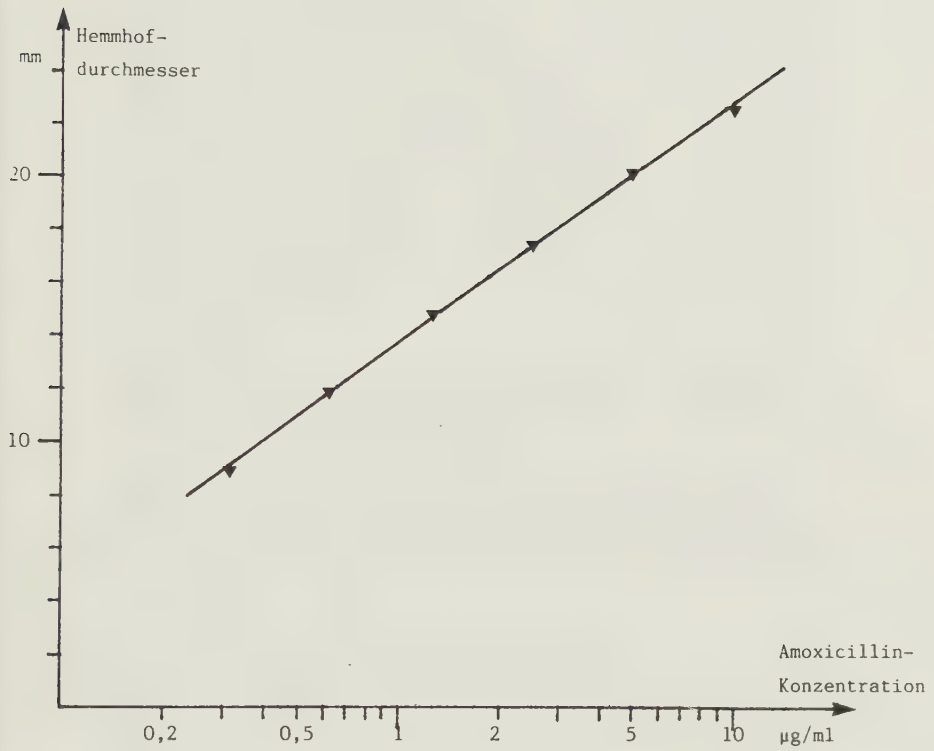


Abb. 3 Eichgerade zur Amoxicillin-Spiegelbestimmung mit Agardiffusionstest

Ansätze wurden gemittelt.

Die Berechnung der Amoxicillin-Konzentration erfolgte mit Hilfe der anhand der Standardlösungen ermittelten Eichkurve.

Ein Teil der Testproben wurde vor dem Ausbringen auf den Agar so in Phosphat-Puffer, pH 6, verdünnt, daß die zu erwartende Endkonzentration im Meßbereich zwischen 0,3 µg/ml und 10 µg/ml lag; die Berechnung der tatsächlichen Amoxicillin-Konzentration erfolgte dann durch Multiplikation der anhand des Hemmzonendurchmessers ermittelten scheinbaren Konzentration mit dem Verdünnungsfaktor.

Abb. 3 zeigt ein Beispiel einer auf halblogarithmischem Papier aufgetragenen Eichgerade zur Amoxicillin-Konzentrationsbestimmung mittels Agardiffusionstest.

3.1.8. Berechnung der exponentiellen Verlaufskurven und der Halbwertszeit von Amoxicillin

Die Elimination eines Pharmakons aus der Blutbahn erfolgt vom Punkt der höchsten Konzentration an in der Regel nach einer exponentiell abfallenden Kurve. Die Berechnung der bestmöglichen Kurve nach der Formel

$$y = a \cdot e^{bx}$$

wobei y für die Plasmakonzentration und x für die Zeit steht, erfolgte mit Hilfe des Programmes "Curve Fitting" auf einem HP 97 Tischrechner nach folgenden Formeln:

$$a = \exp \left[\frac{\sum \ln y_i}{n} - b \frac{\sum x_i}{n} \right] \quad b = \frac{\sum x_i \ln y_i - \frac{1}{n} (\sum x_i)(\sum \ln y_i)}{\sum x_i^2 - \frac{1}{n} (\sum x_i)^2}$$

Die jeweilige Plasma-Halbwertszeit ergibt sich aus oben genannter Formel als $t_{1/2} = - \frac{\ln 2}{b}$.

3.1.9. Infektionsstamm

Zur Infektion wurde ein Amoxicillin-empfindlicher Stamm von *Salmonella typhimurium* (Institutssammlung, Tgb.-Nr. 3118) verwendet.

Die Salmonellen wurden in Brain Heart Infusion Bouillon (Oxoid, Nr. CM 225) vermehrt; die Keimdichte wurde anhand der Bariumsulfat-Trübungsreihe nach McFarland (HALLMANN und BURKHARDT, 1974) photometrisch bei 530 nm ermittelt.

Die Infektionsdosis betrug 1×10^9 Keime pro Taube; die Infektion erfolgte peroral.

3.1.10. Organkulturen

Zum Nachweis der Infektion wurden von Organen von mit Salmonellen infizierten Tieren Organkulturen angefertigt.

Die entnommenen Proben von Leber, Milz, Niere und Darm wurden zunächst in Tetrathionat-Bouillon bei 42° C für 24 Stunden angereichert; anschließend wurde die Anreicherungsflüssigkeit auf Brillantgrün-Lactose-Agar ausgestrichen. Die Ablesung erfolgte dann nach 24-stündiger Bebrütung bei 37° C.

3.1.11. Histologische Untersuchungen

Organe, von denen histologische Präparate angefertigt wurden, wurden zunächst in Bouin-Lösung fixiert. Anschließend wurden sie in Paraffin eingebettet, geschnitten und mit Hämatoxilin-Eosin gefärbt.

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Plasmakonzentration beim gesunden Tier

In dieser ersten Versuchsreihe wurde vergleichend die Pharmakokinetik unterschiedlicher Amoxicillin-Formulierungen bei teilweise unterschiedlicher Applikationsart durch Messung der Amoxicillin-Plasmakonzentrationen ermittelt.

Die Behandlung mit dem jeweiligen Amoxicillin-Präparat erfolgte bei allen Versuchen morgens um 8⁰⁰ Uhr. Die Blutentnahmen wurden dann nach ein, zwei, vier, acht und, sofern zu diesem Zeitpunkt noch eine nachweisbare Amoxicillin-Plasmakonzentration vorhanden war, auch nach 12 und 24 Stunden durchgeführt.

3.2.1.1. Behandlung mit 45 mg Amoxicillin-Trihydrat-Pulver pro Taube peroral

In diesem Versuch sollte die Pharmakokinetik von Amoxicillin-Trihydrat bei peroraler Verabreichung untersucht werden.

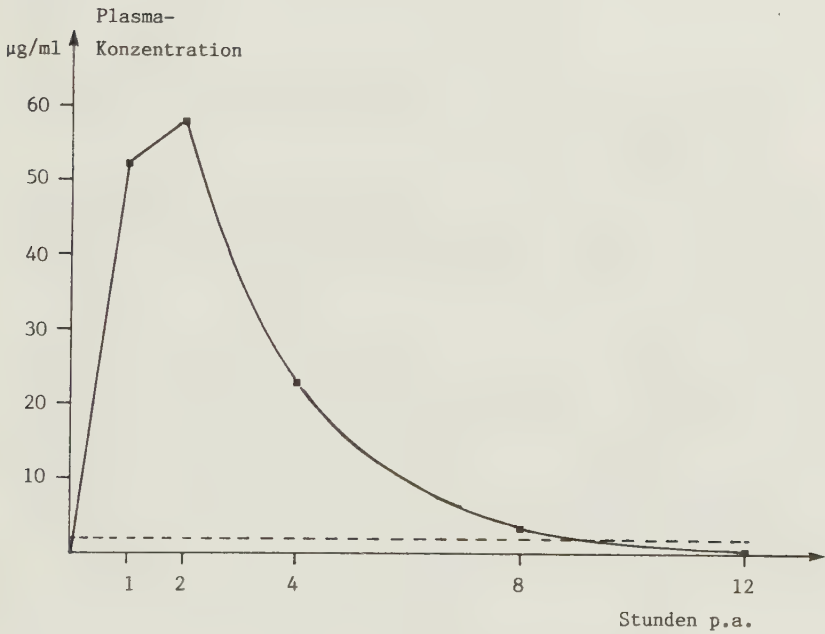
Unter den verschiedenen für die perorale Applikation zur Verfügung stehenden Präparaten schien Clamoxyl^R-Pulver für die Anwendung bei der Taube am günstigsten zu sein. Aus praktischen Erwägungen erhielten in diesem Versuch alle Tiere die gleiche Menge; eine Einzeldosis betrug 450 mg Pulver entsprechend 45 mg Amoxicillin, abgefüllt in Gelatinekapseln. Bezogen auf das Körpergewicht der untersuchten Tiere ($\emptyset$ 340 g) betrug die durchschnittliche Dosis 130 mg/kg.

Die Ergebnisse des Versuches sind in Tabelle 3 und in Abbildung 4 wiedergegeben.

Die maximale Plasmakonzentration von 57,9 $\mu\text{g/ml}$ wurde nach 2 Stunden erreicht; die errechnete Plasmahalbwertszeit betrug 1,5 Stunden.

Eine mindest-wirksame Plasmakonzentration von 2 $\mu\text{g/ml}$ wurde im Durchschnitt nach 9,3 Stunden unterschritten.

Abb. 4 Plasmakonzentration nach Verabreichung von 45 mg Amoxicillin-Trihydrat pro Taube peroral



■ : Meßwert, $\bar{x}$ aus $n = 5$

-----: Mindest-wirksame Plasmakonzentration von $2 \mu\text{g/ml}$

Tab. 3 Plasma-Werte nach Verabreichung von 45 mg Amoxicillin-Trihydrat pro Taube peroral

Stunden p.a. :	1	2	4	8	12
$\bar{x}$ aus $n = 5$ ($\mu\text{g/ml}$) :	52,2	57,9	22,9	3,3	0,6
s :	30,9	13,2	8,5	4,1	1,0

3.2.1.2. Behandlung mit 100 mg/kg Amoxicillin-Natrium-Lösung intramuskulär

In diesem Versuch wurde die Pharmakokinetik einer intramuskulär verabreichten Amoxicillin-Natrium-Lösung (Clamoxyl^R-Injektion) untersucht; die Dosis betrug 100 mg/kg Körpergewicht.

Die Ergebnisse des Versuches sind in Tabelle 4 und in Abbildung 5 dargestellt.

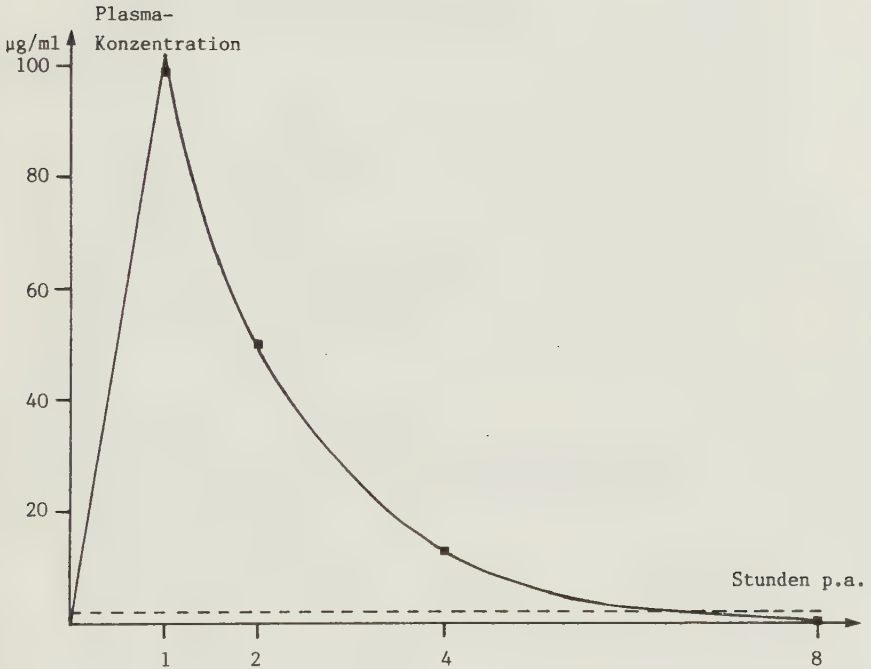
Die maximale Plasmakonzentration von 99,0 $\mu\text{g/ml}$ wurde bereits nach einer Stunde erreicht; die berechnete Plasmahalbwertszeit beträgt 0,98 Stunden.

Eine mindest-wirksame Plasmakonzentration von 2 $\mu\text{g/ml}$ wurde durchschnittlich nach 6,5 Stunden unterschritten.

Tab. 4 Plasma-Werte nach Behandlung mit 100 mg/kg Körpergewicht Amoxicillin-Natrium-Lösung intramuskulär

Stunden p.a. :	1	2	4	8
$\bar{x}$ aus $n = 5$ ($\mu\text{g/ml}$) :	99,0	50,2	12,9	0,7
s :	10,7	19,9	3,7	0,2

Abb. 5 Plasmakonzentration nach Behandlung mit 100 mg/kg Körpergewicht Amoxicillin-Natrium-Lösung intramuskulär



■ : Meßwert, $\bar{x}$ aus $n = 5$

----- : Mindest-wirksame Plasmakonzentration von 2 $\mu\text{g/ml}$

3.2.1.3. Behandlung mit 100 mg/kg Amoxicillin-Trihydrat Suspension intramuskulär

In diesem Versuch wurde untersucht, ob bei Verwendung einer Amoxicillin-Trihydrat-Suspension (Clamoxyl^R-15 % Suspension) im Vergleich zur Amoxicillin-Natrium-Lösung (Clamoxyl^R-Injektion) ein deutlich länger anhaltender wirksamer Plasmaspiegel erzielt werden kann. Die verabreichte Dosis betrug deshalb gleichfalls 100 mg/kg Körpergewicht, die Applikation erfolgte intramuskulär.

Die Ergebnisse des Versuches sind in Tabelle 5 und in Abbildung 6 wiedergegeben.

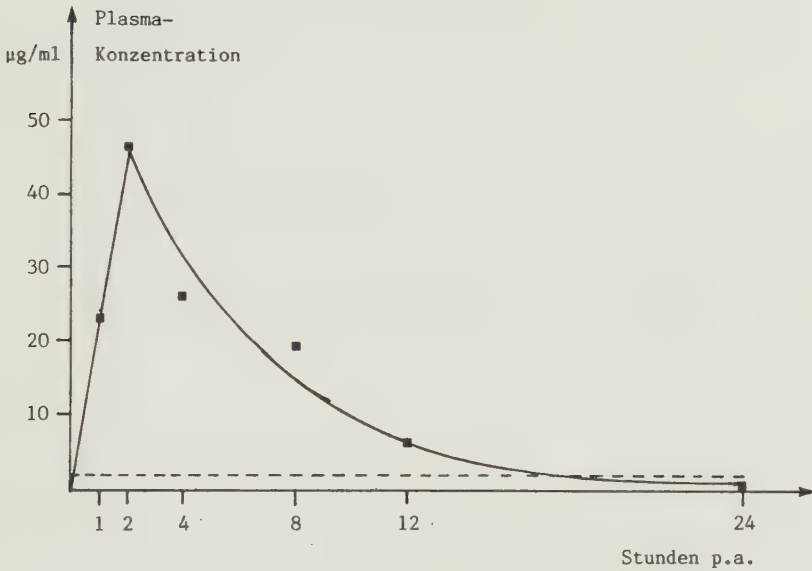
Die maximale Plasmakonzentration von 46,6 µg/ml wurde nach 2 Stunden erreicht; die errechnete Plasmahalbwertszeit beträgt 3,7 Stunden.

Die mindest-wirksame Plasmakonzentration von 2 µg/ml wurde im Durchschnitt nach 18,5 Stunden unterschritten.

Tab. 5 Plasma-Werte nach Behandlung mit 100 mg/kg Körpergewicht Amoxicillin-Trihydrat-Suspension intramuskulär

Stunden p.a. :	1	2	4	8	12	24
$\bar{x}$ aus $n = 5$ (µg/ml) :	23,0	46,6	26,3	19,2	6,5	0,7
s :	9,5	21,7	6,2	3,4	3,2	0,3

Abb. 6 Plasmakonzentration nach Behandlung mit 100 mg/kg Körpergewicht Amoxicillin-Trihydrat-Suspension intramuskulär



- : Meßwert, $\bar{x}$ aus $n = 5$
 ---- : Mindest-wirksame Plasmakonzentration von 2 $\mu\text{g/ml}$

3.2.1.4. Behandlung mit 100 mg/kg Amoxicillin-Trihydrat-Suspension subcutan

3.2.1.4.1. Einmalige Behandlung

In diesem Versuch sollte geklärt werden, ob die subcutane Verabreichung des gleichen Präparates (Clamoxyl^R-15 % Suspension) im Vergleich zur intramuskulären Injektion einen länger anhaltenden wirksamen Blutspiegel bewirkt; die Dosis betrug ebenfalls 100 mg/kg Körpergewicht.

Die Ergebnisse des Versuches sind in Tabelle 6 und in Abbildung 7 zu sehen.

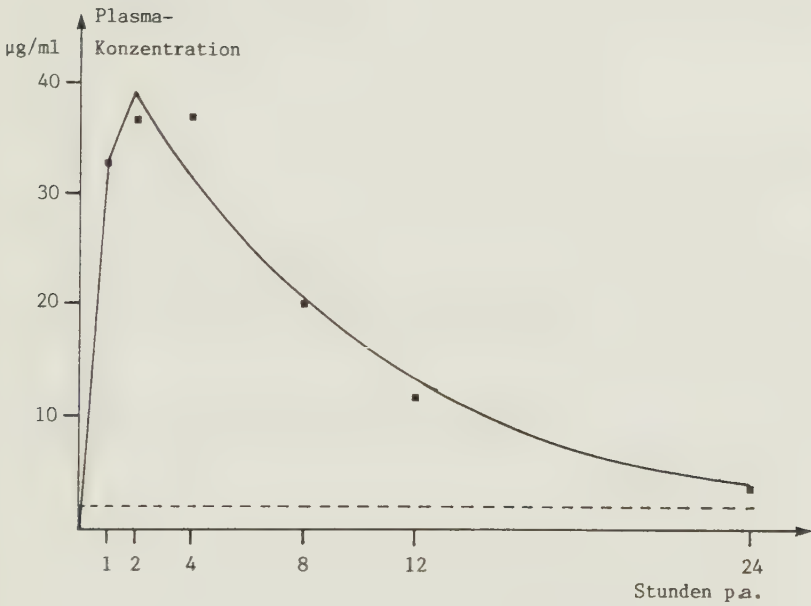
Die maximale Plasmakonzentration von 36,9 µg/ml wurde nach 4 Stunden erreicht; die berechnete Plasmahalbwertszeit betrug 6,5 Stunden.

Eine mindest-wirksame Plasmakonzentration von 2 µg/ml wurde während des Untersuchungszeitraumes von 24 Stunden nicht unterschritten.

Tab. 6 Plasma-Werte nach Behandlung mit 100 mg/kg Körpergewicht
Amoxicillin-Trihydrat-Suspension subcutan

Stunden p.a. :	1	2	4	8	12	24
$\bar{x}$ aus n = 5 (µg/ml) :	32,9	36,8	36,9	20,1	11,9	3,9
s :	18,3	5,5	12,9	6,2	1,8	1,7

Abb. 7 Plasmakonzentration nach Behandlung mit 100 mg/kg Körpergewicht Amoxicillin-Trihydrat-Suspension subcutan



■ : Meßwert, $\bar{x}$ aus $n = 5$

----- : Mindest-wirksame Plasmakonzentration von 2 $\mu\text{g/ml}$

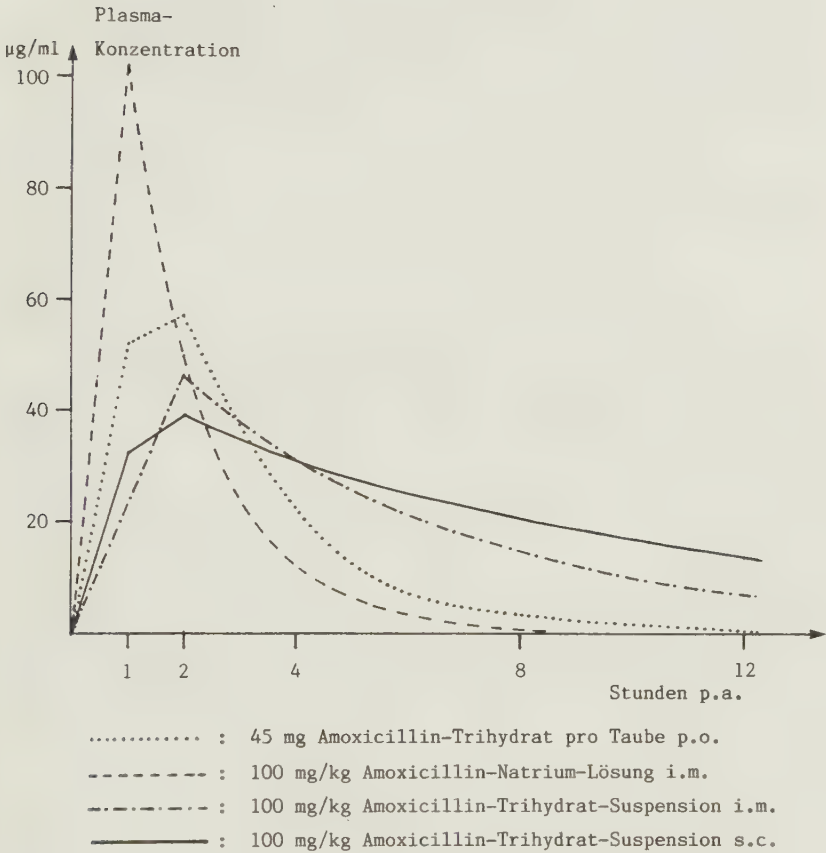
Die Ergebnisse der Untersuchungen der Plasma-Werte beim gesunden Tier sind zusammenfassend in Tabelle 7 und in Abbildung 8 dargestellt.

In der vergleichenden Darstellung der Untersuchungsergebnisse wird deutlich, daß die subcutane Verabreichung einer Amoxicillin-Trihydrat-Suspension in einer Dosis von 100 mg/kg Körpergewicht unter den untersuchten Dosierungen den günstigsten Verlauf der Amoxicillin-Plasmakonzentrationen bewirkt; alle weiteren Untersuchungen wurden daher auf der Grundlage dieser Dosierung vorgenommen.

Tab. 7 Vergleichende Darstellung der pharmakokinetischen Parameter der untersuchten Amoxicillin-Dosierungen

	$C_{\max}$ ($\mu\text{g/ml}$)	$T_{\max}$ (h)	$T_{1/2}$ (h)	$T_{2\mu\text{g/ml}}$ (h)
Amoxicillin-Trihydrat, 45 mg/Taube p.o.	58,5	2	1,49	9,3
Amoxicillin-Natrium-Lsg., 100 mg/kg i.m.	99,0	1	0,98	6,5
Amoxicillin-Trihydrat- Susp., 100 mg/kg i.m.	46,6	2	3,66	18,5
Amoxicillin-Trihydrat- Susp., 100 mg/kg s.c.	36,9	4	6,48	29,7

Abb. 8 Vergleichende Darstellung des Konzentrations-Verlaufs
bei verschiedenen Applikationsformen



3.2.1.4.2. Dreimalige Behandlung im Abstand von 24 Stunden

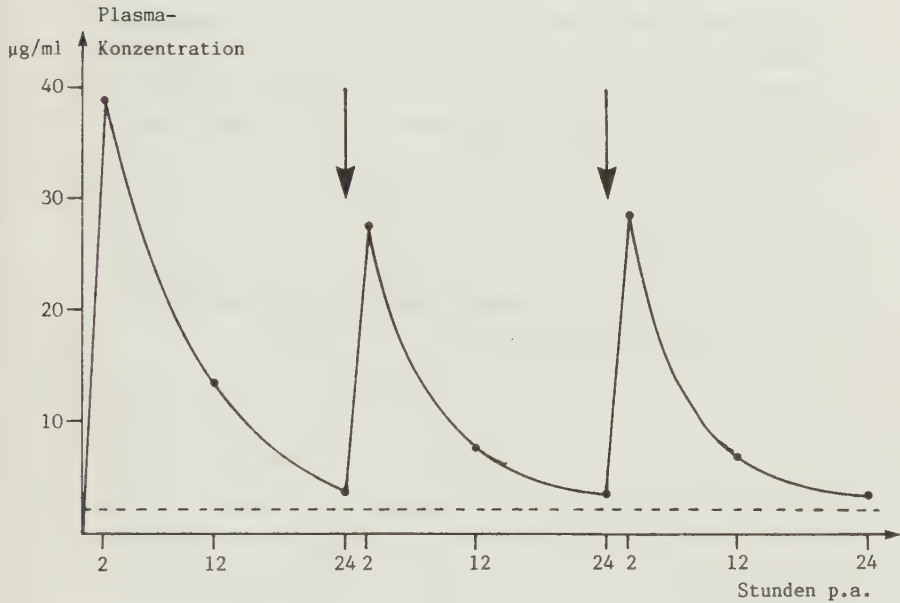
In diesem Versuch sollte untersucht werden, ob sich die Pharmakokinetik von Amoxicillin nach mehrmaliger Applikation ändert. Zu diesem Zweck erhielten die untersuchten Tiere drei mal im Abstand von 24 Stunden jeweils 100 mg/kg Körpergewicht Amoxicillin-Trihydrat-Suspension (Clamoxyl^R- 15 % Suspension) subcutan verabreicht.

Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Tabelle 8 und in Abbildung 9 dargestellt.

Tab. 8 Plasma-Werte bei dreimaliger Behandlung mit Amoxicillin-Trihydrat-Suspension in einer Dosis von 100 mg/kg im Abstand von jeweils 24 Stunden

Stunden p.a. :	Erster Tag			Zweiter Tag			Dritter Tag		
	2	12	24	2	12	24	2	12	24
$\bar{x}$ (1. Tag n = 5,									
2. u. 3. Tag n = 3)	36,8	11,9	3,9	27,6	7,6	3,6	28,6	6,9	3,5
s :	5,5	1,8	1,7	19,9	6,9	2,1	12,1	2,8	2,3

Abb. 9 Plasma-Werte bei dreimaliger Behandlung mit Amoxicillin-Trihydrat-Suspension in einer Dosis von 100 mg/kg subcutan im Abstand von jeweils 24 Stunden



- ↓ : Nachdosierung
 ● : Meßwert (1. Tag $\bar{x}$ aus $n = 5$; 2. u. 3. Tag $\bar{x}$ aus $n = 3$)
 ----- : Mindest-wirksame Plasmakonzentration von 2 µg/ml

3.2.2. Gewebekonzentration beim gesunden Tier

In diesem Versuch wurde die Verteilung einer subcutan verabreichten Dosis von 100 mg/kg Amoxicillin-Trihydrat-Suspension (Clamoxyl^R-15 % Suspension) in verschiedenen Geweben untersucht; es wurden Gewebeproben aus Leber, Niere, Lunge, Brustmuskel und Gehirn verwendet.

Die Ergebnisse des Versuches sind in Tabelle 9 und in Abbildung 10 dargestellt.

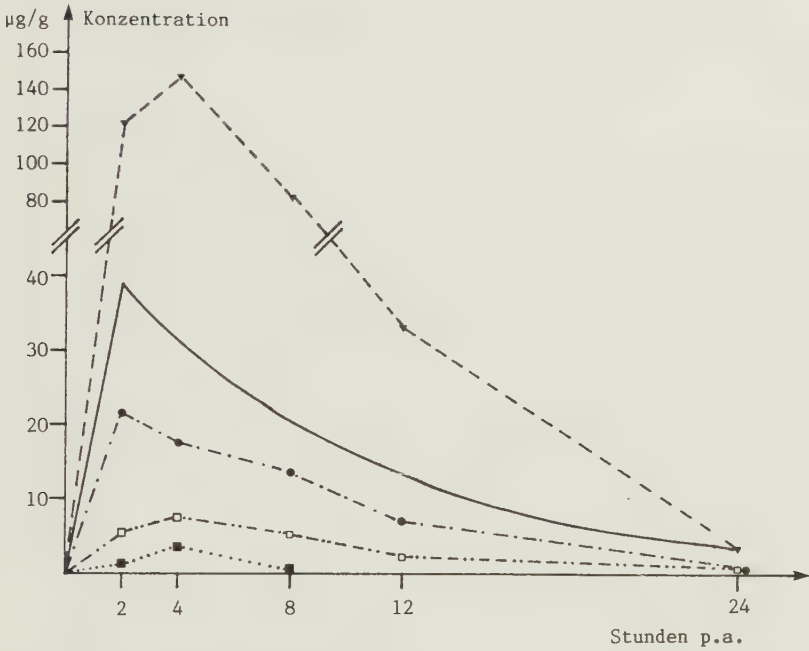
Bei den gewählten Versuchsbedingungen lag die untere Nachweisgrenze für Amoxicillin bei 0,6 µg/g Gewebe; Konzentrationen unter diesem Wert werden nicht ausgewiesen.

Tab. 9 Gewebe-Werte nach Behandlung mit 100 mg/kg Amoxicillin-Trihydrat-Suspension subcutan

	2	4	8	12	24 Stunden p.a.
Muskel	1,1	3,4	0,8	—	—
Leber	21,8	17,6	13,8	6,8	0,6
Niere	122,7	147,0	83,1	33,2	3,3
Lunge	5,4	7,4	5,1	2,2	0,9
Gehirn	—	1,1	—	—	—

Angaben in µg/g Gewebe; $\bar{x}$ aus $n = 3$

Abb. 10 Gewebe-Werte nach Behandlung mit 100 mg/kg Amoxicillin-Trihydrat-Suspension subcutan



- ▼- - - : Niere
- - - : Leber
- - - : Muskel
- - - : Lunge
- : Plasma

▼ ● ■ □ : Meßwerte, $\bar{x}$ aus $n = 3$

3.2.3. Histologie

Für die histologische Untersuchung wurden jeweils Leber und Niere von zwei klinisch gesunden Tauben verwendet, die zuvor drei Tage lang täglich mit 100 mg/kg Amoxicillin-Trihydrat-Suspension (Clamoxyl^R-15 % Suspension) behandelt worden waren.

Es waren bei beiden Tieren weder in der Leber noch in der Niere Anzeichen für eine gewebsschädigende Wirkung des Amoxicillins sichtbar.

3.2.4. Plasmakonzentration beim mit Salmonellen infizierten Tier

In diesem Versuch wurde untersucht, ob sich die Pharmakokinetik einer in einer Dosis von 100 mg/kg Körpergewicht verabreichten Amoxicillin-Trihydrat-Suspension (Clamoxyl^R-15 % Suspension) ändert, wenn die Tauben durch eine Infektion mit *Salmonella typhimurium* belastet waren.

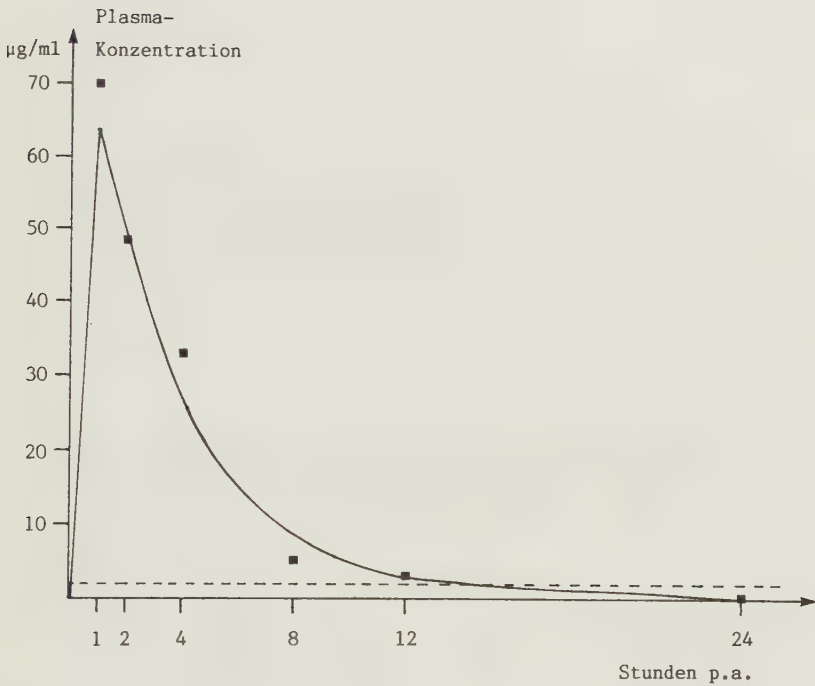
Bislang unbehandelte Tiere wurden mit 1×10^9 Keimen pro Tier peroral infiziert; drei Tage post infectionem wurden die Tiere mit 100 mg/kg Körpergewicht Clamoxyl^R-15 % Suspension subcutan behandelt. Anschließend wurde über einen Zeitraum von 24 Stunden die Amoxicillin-Plasmakonzentration bestimmt.

Die Ergebnisse des Versuches sind in Tabelle 10 und in Abbildung 11 dargestellt.

Die maximale Plasmakonzentration von 70,1 µg/ml wurde bereits nach einer Stunde erreicht; die berechnete Plasmahalbwertszeit betrug 2,44 Stunden.

Eine mindest-wirksame Plasmakonzentration von 2 µg/ml wurde im Durchschnitt nach 13,2 Stunden unterschritten.

Abb. 11 Plasma-Werte nach Behandlung mit 100 mg/kg Körpergewicht Amoxicillin-Trihydrat-Suspension subcutan beim mit Salmonellen infizierten Tier



■ : Meßwert, $\bar{x}$ aus $n = 5$

----- : Mindest-wirksame Plasmakonzentration von $2\mu\text{g/ml}$

Tab. 10 Plasma-Werte nach Behandlung mit 100 mg/kg Körpergewicht Amoxicillin-Trihydrat-Suspension beim mit Salmonellen infizierten Tier

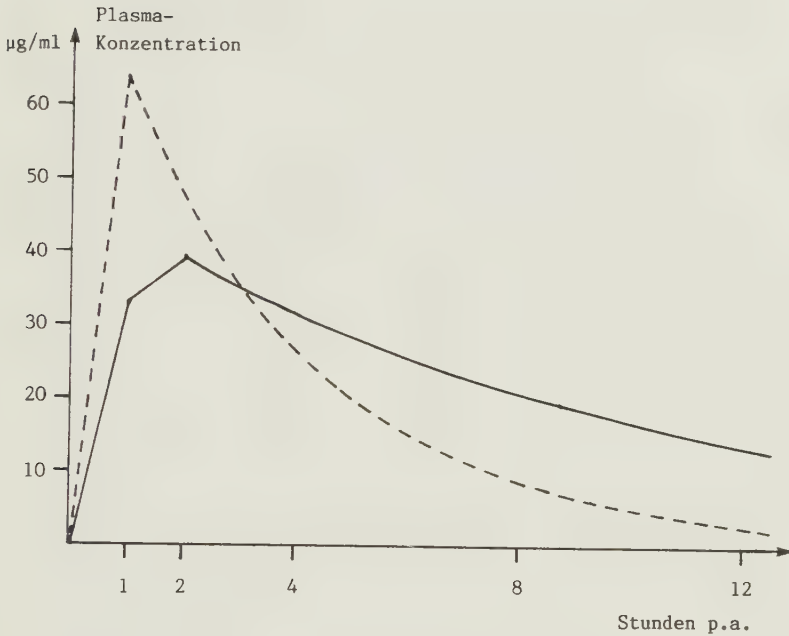
Stunden p.a. :	1	2	4	8	12	24
$\bar{x}$ aus n = 5 ($\mu\text{g/ml}$) :	70,1	48,5	33,0	5,4	3,1	0,1
s :	31,7	12,5	19,6	2,9	2,1	0,2

Tabelle 11 und Abbildung 12 zeigen eine vergleichende Darstellung der pharmakokinetischen Parameter und des Spiegelverlaufs nach einer Dosis von 100 mg/kg Körpergewicht Amoxicillin-Trihydrat-Suspension subcutan verabreicht beim gesunden und beim mit einer Salmonellen-Infektion belasteten Tier.

Tab. 11 Pharmakokinetische Parameter einer subcutan verabreichten Amoxicillin-Trihydrat-Suspension beim gesunden und beim mit Salmonellen infizierten Tier

	$C_{\max}$ ($\mu\text{g/ml}$)	$T_{\max}$ (h)	$T_{1/2}$ (h)	$T_{2\mu\text{g/ml}}$ (h)
Gesundes Tier	36,9	4	6,48	29,7
Mit Salmonellen infiziertes Tier	70,1	1	2,44	13,2

Abb. 12 Vergleichende Darstellung des Amoxicillin-Konzentrationsverlaufs bei gesunden und bei mit Salmonellen infizierten Tieren



———— : Amoxicillin-Trihydrat-Suspension, 100 mg/kg s.c.,
gesunde Tiere

- - - - - : Amoxicillin-Trihydrat-Suspension, 100 mg/kg s.c.,
mit Salmonellen infizierte Tiere

3.2.5. Gewebekonzentration bei mit Salmonellen infizierten Tieren

Im Verlauf der in 3.2.4. beschriebenen Untersuchungen am mit Salmonellen infizierten Tier wurden auch die Gewebespiegel vier Stunden und zwölf Stunden nach der Behandlung bestimmt.

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Tabelle 12 vergleichend mit den Ergebnissen beim gesunden Tier wiedergegeben.

Tab. 12 Vergleichende Darstellung der Gewebe-Werte beim gesunden und beim mit Salmonellen infizierten Tier

	4 Std. p.a.		24 Std. p.a.	
	gesund	infiziert	gesund	infiziert
Muskel	3,4	2,1	—	—
Leber	17,6	44,9	0,6	—
Niere	122,7	266,6	3,3	—
Lunge	7,4	15,1	0,9	—
Gehirn	1,1	—	—	—

Angaben in $\mu\text{g/g}$ Gewebe; $\bar{x}$ aus $n = 3$; untere Nachweisgrenze $0,6 \mu\text{g/g}$

3.2.6. Organkulturen

Zum Nachweis der in 3.2.4. und 3.2.5. beschriebenen Belastungsinfektion mit *Salmonella typhimurium* wurden von verschiedenen Organen Kulturen angefertigt.

Fünf Tage post infectionem wurden drei 48 Stunden zuvor mit Clamoxyl^R-15 % Suspension behandelte und drei unbehandelte Tiere getötet und Leber, Milz, Niere und Darm entnommen; die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchungen sind in Tabelle 13 dargestellt.

Tab. 13 Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchungen auf Salmonellen

		Darm	Innere Organe
Unbehandelte Tiere:	1	-	-
	2	-	+
	3	-	+
Mit Clamoxyl ^R be-			
handelte Tiere:	4	+	-
	5	-	-
	6	-	+

+ : Salmonellen-Nachweis positiv

- : Salmonellen-Nachweis negativ

4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Das zur Gruppe der halbsynthetischen Penicilline zählende Breit-spektrum-Antibiotikum Amoxicillin ist heute aufgrund seiner guten Wirksamkeit und seiner geringen bis fehlenden Toxizität ein in Human- und Veterinärmedizin sehr geschätztes und viel verwendetes Pharmakon. Über seine Wirkung und seine Anwendungsmöglichkeiten beim Vogel liegen bis heute jedoch nur sehr wenige und zum Teil widersprüchliche Angaben vor. Es war Ziel der vorliegenden Arbeit, diese Widersprüche so weit wie möglich aufzuklären und anhand eigener Untersuchungen eine Dosierungsempfehlung zu erarbeiten.

Amoxicillin ist in zwei chemischen Grundformen, dem Amoxicillin-Natriumsalz und dem Amoxicillin-Säure-Trihydrat verfügbar. Diese beiden Grundformen sind in verschiedenen Handelspräparaten wiederum teilweise unterschiedlich aufgearbeitet; da sich diese Formen in ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften stark unterscheiden, ist es selbstverständlich, daß die Aufnahme und die Verteilung im Organismus bei verschiedenen Präparaten nicht einheitlich sein kann. Aus diesem Grund ist die in verschiedenen Arbeiten der internationalen Literatur zu findende Angabe "Amoxicillin" für das untersuchte Antibiotikum ohne nähere Spezifizierung unzureichend.

Bei den eigenen Untersuchungen wurden folgende vier Amoxicillin-Zubereitungen bzw. Applikationsformen gewählt:

- Amoxicillin-Trihydrat-Pulver peroral
- Amoxicillin-Natriumsalz-Lösung intramuskulär
- Amoxicillin-Trihydrat-Suspension intramuskulär
- Amoxicillin-Trihydrat-Suspension subcutan

Die Dosis betrug jeweils 100 mg/kg Körpergewicht; lediglich bei der peroralen Applikation erhielten alle Tiere aus praktischen Erwägungen die gleiche Menge; die durchschnittliche Dosis betrug dabei 130 mg/kg Körpergewicht.

Bei der peroralen Applikation wurde nach zwei Stunden ein Spitzenwert von 58,5 µg/ml erreicht, die Plasmahalbwertszeit betrug 1,5 Stunden. Unter Zugrundelegung eines mindest-wirksamen Spiegels von 2 µg/ml, der von DORRESTEIN et al. (1984) für die Anwendung bei der Taube postuliert

wird, konnte eine therapeutische Konzentration über 9 Stunden aufrecht erhalten werden.

Die intramuskuläre Verabreichung einer Amoxicillin-Natrium-Lösung brachte gegenüber der peroralen Applikation von Amoxicillin-Trihydrat-Pulver keinen therapeutischen Vorteil. Die Spitzenkonzentration lag hier mit 99,0 µg/ml nach einer Stunde zwar deutlich höher, doch folgte dem schnellen Anstieg ein fast ebenso schneller Abfall der Plasmakonzentration. Die beobachtete Plasmahalbwertszeit betrug 0,98 Stunden, und die mindest-wirksame Konzentration von 2 µg/ml wurde bereits nach 6,5 Stunden unterschritten.

Die entscheidende Verbesserung des Verlaufs der Plasmakonzentration gelang durch die Verwendung einer zur Injektion geeigneten Amoxicillin-Trihydrat-Suspension; bei intramuskulärer Applikation wurde der Spitzenwert von 46,6 µg/ml nach zwei Stunden erreicht. Die Plasmahalbwertszeit betrug 3,66 Stunden, und die mindest-wirksame Konzentration von 2 µg/ml wurde erst nach 18,5 Stunden unterschritten.

Dieser deutliche Vorteil gegenüber der Amoxicillin-Natrium-Lösung erscheint leicht verständlich. Eine wässrige Lösung wird vom Injektionsort sehr schnell resorbiert; dies führt zwar innerhalb kurzer Zeit zu sehr hohen Serum-Spitzenwerten, die jedoch genauso schnell wieder absinken. Eine Amoxicillin-Trihydrat-Suspension hingegen wird vom Ort der Injektion nur relativ langsam aufgenommen; durch die so entstehende Depotwirkung wird das Medikament über längere Zeit kontinuierlich in den Körperkreislauf gebracht. Dies führt zu einer deutlichen Abflachung der Konzentrations-Verlaufskurve und zu einer erheblichen Verlängerung der Plasmahalbwertszeit. Der sich hieraus ergebende therapeutische Vorteil vor allem gegen Ende der Dosierungsperiode liegt auf der Hand.

Eine weitere leichte Verbesserung des Konzentrations-Verlaufs konnte durch den Wechsel der Injektionsart erzielt werden. Nach subcutaner Applikation der Amoxicillin-Trihydrat-Suspension wurde die maximale Konzentration von 36,9 µg/ml erst nach 4 Stunden erreicht; die beobachtete Plasmahalbwertszeit betrug 6,48 Stunden, die Talkonzentration von 2 µg/ml wurde erst nach 29,7 Stunden unterschritten.

Die Unterschiede im Verlauf der Plasmakonzentration nach intramuskulärer und nach subcutaner Injektion lassen sich relativ einfach erklären. Da der Muskel im Vergleich zum Unterhautgewebe eine

wesentlich stärkere Durchblutung aufweist, wird das applizierte Pharmakon hier deutlich schneller in die Blutbahn aufgenommen. Bei der subcutanen Applikation hingegen erfolgt die Resorption über einen wesentlich längeren Zeitraum hinweg; dadurch liegt die erreichte Plasmaspitzenkonzentration zwar niedriger als bei intramuskulärer Applikation, die Halbwertszeit ist jedoch deutlich länger.

Der Verlauf der Plasmakonzentration nach subcutaner Applikation von Amoxicillin-Trihydrat-Suspension wurde auch bei mehrmaliger Behandlung untersucht. Hierbei ergaben sich nach einer dreimaligen Verabreichung an drei aufeinanderfolgenden Tagen keine wesentlichen Veränderungen. Dies deutet daraufhin, daß zum einen eine Kumulation nicht zu befürchten ist und zum anderen eine Beschleunigung des Abbaus und der Ausscheidung durch Enzyminduktion zumindest während des untersuchten Behandlungszeitraumes von drei Tagen nicht stattfindet.

DORRESTEIN et al. (1984) untersuchten die Amoxicillin-Konzentration nach der peroralen Verabreichung von 120 mg/kg Körpergewicht einer Amoxicillin-Trihydrat-Lösung bei der Taube. Ihre Ergebnisse weichen von den eigenen Beobachtungen nach der Gabe von 130 mg/kg Amoxicillin-Trihydrat-Pulver etwas ab. So ist die von DORRESTEIN et al. errechnete Halbwertszeit kürzer (1,07 gegenüber 1,5 Stunden), und die bereits nach 0,5 Stunden erreichte Serum-Spitzenkonzentration liegt deutlich niedriger (20,4 gegenüber 57,9 µg/ml). Diese Differenzen lassen sich darauf zurückführen, daß die von ihnen verwendete Amoxicillin-Trihydrat-Lösung wohl deutlich schneller resorbiert werden dürfte als die in den eigenen Untersuchungen verwendete pulverförmige Zubereitung.

Ebenfalls Unterschiede zu den Untersuchungen von DORRESTEIN et al. gibt es bei der intramuskulären Applikation von 100 mg/kg Amoxicillin-Natrium-Lösung. DORRESTEIN et al. erreichten hier eine Spitzenkonzentration von 28,8 µg/ml und errechneten eine Halbwertszeit von 0,57 Stunden; die eigenen Werte liegen mit 99,0 µg/ml und 0,98 Stunden deutlich höher. LASHEV und DRUMEV (1983) hingegen fanden bei ihren Untersuchungen am Vogel nach Applikation einer Amoxicillin-Natrium-Lösung in einer Dosis von nur 10 mg/kg Körpergewicht eine therapeu-

tisch wirksame Blutkonzentration über 10 Stunden. Der Widerspruch zwischen den eigenen Untersuchungen und den Ergebnissen von LASHEV und DRUMEV läßt sich zumindest teilweise dadurch erklären, daß LASHEV offensichtlich von einer wesentlich niedrigeren mindest-wirksamen Blutkonzentration ausgeht; der Widerspruch zu den Ergebnissen von DORRESTEIN et al. läßt sich nicht befriedigend erklären.

LASHEV und DRUMEV verwendeten in ihren Untersuchungen beim Vogel ebenfalls zur Injektion geeignete Suspensionen von Amoxicillin-Trihydrat. Dabei erreichten sie nach intramuskulärer Verabreichung einer Dosis von nur 30 mg/kg Körpergewicht einen therapeutisch wirksamen Blutspiegel über 24 Stunden. Dieser Unterschied zu den eigenen Beobachtungen ergibt sich zum einen wiederum daraus, daß LASHEV und DRUMEV von einer wesentlich geringeren mindest-wirksamen Blutkonzentration ausgehen; zum anderen ist es nicht sicher, ob die in den verschiedenen Untersuchungen verwendeten Suspensionen direkt vergleichbar sind. Da sich aber nach den Untersuchungen von DOWRICK (1979) in Abhängigkeit von der Aufbereitung und der Konzentration eines Wirkstoffes in der Injektionssuspension erhebliche Unterschiede in der Pharmakokinetik ergeben, muß nicht unbedingt ein Widerspruch zwischen den eigenen und den von LASHEV und DRUMEV gemachten Beobachtungen bestehen.

Nach der subcutanen Applikation von 100 mg/kg Körpergewicht Amoxicillin-Trihydrat-Suspension wurden außer den Plasma-Werten auch die Amoxicillin-Konzentrationen in verschiedenen Geweben bestimmt.

Die beobachteten Konzentrationen in der Niere lagen weit über den jeweiligen Plasmakonzentrationen; dies deckt sich mit den Beobachtungen von DORRESTEIN et al. (1985) bei der Taube, nicht jedoch mit den von LASHEV und SEMERJIEV (1983) gemachten Untersuchungen beim Huhn. Bei von verschiedenen Untersuchern (MIKI, 1974; NAKAZAWA, 1974; BRANDER, 1977) an verschiedenen Säugern und beim Mensch durchgeführten Untersuchungen war die Niere ebenfalls stets das Organ, das die höchsten Amoxicillin-Konzentrationen aufwies. Dies ist auch leicht verständlich, da Amoxicillin zum größten Teil unverstoffwechselt durch die Niere ausgeschieden wird (BROGDEN et al., 1979).

Werte, die etwas unterhalb der Serum-Konzentrationen lagen, wurden

in Leber und Lunge gefunden. Im Muskelgewebe lagen die beobachteten Konzentrationen deutlich niedriger, und im Gehirn war lediglich 4 Stunden p.a. einmal eine Konzentration von mehr als 0,6 µg/ml nachweisbar. Diese Ergebnisse befinden sich im wesentlichen im Einklang mit den Beobachtungen anderer Untersucher am Vogel und an verschiedenen Säugetieren; lediglich die Konzentration in der Leber lag bei einigen Untersuchungen etwas über den Serum-Werten.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß hinsichtlich der Verteilung von Amoxicillin in den untersuchten Geweben Niere, Leber, Lunge, Muskel und Gehirn kein grundlegender Unterschied zu den Verhältnissen beim Säuger besteht. Es ist jedoch von nicht unerheblicher Bedeutung, daß die erreichten Konzentrationen in allen Organen mit Ausnahme der Niere mehr oder weniger deutlich unter den Serum-Konzentrationen liegen. Dies kann dazu führen, daß trotz einer ausreichenden Serum-Konzentration am Ort der Infektion, also am jeweils befallenen Organ, keine therapeutisch wirksame Konzentration erreicht wird. Man muß diese Überlegungen bei der Therapie bakterieller Erkrankungen mit einbeziehen und die jeweilige Dosierung dann auch von der mutmaßlichen Lokalisation der Infektion abhängig machen.

Bei Untersuchungen am drei Tage vor der Behandlung mit Amoxicillin mit 10⁹ Keimen von *Salmonella typhimurium* infizierten Tier ergab sich ein wesentlich ungünstigerer Verlauf der Amoxicillin-Konzentration als beim gesunden Tier. Die erreichte Spitzenkonzentration lag mit 70,1 µg/ml gegenüber 36,9 µg/ml deutlich höher; dieser Spitzenwert wurde bereits nach einer Stunde erreicht, die berechnete Plasmahalbwertszeit war mit 2,4 Stunden wesentlich kürzer als beim gesunden Tier. Die 4 und 24 Stunden p.a. bestimmten Gewebe-Werte bestätigen den Verlauf der Plasmakonzentration. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß sowohl die Resorption von der Injektionsstelle als auch die Ausscheidung durch die Niere beschleunigt abliefen, was sich auf einen aufgrund der Auseinandersetzung des Organismus mit dem Erreger allgemein erhöhten Stoffwechsel zurückführen lassen dürfte. Diese Beobachtung steht auch in Einklang mit den Untersuchungen von SA-BRAUTZKI (1983) mit Gentamycin; auch sie fand bei der mit Salmonellen infizierten Taube einen stark beschleunigten Abfall der Antibiotikum-

Konzentration, führte dies allerdings im wesentlichen auf eine Nierenschädigung zurück.

Während des Untersuchungszeitraumes wurden etwa 200 Behandlungen mit Amoxicillin durchgeführt. Hierbei konnten in keinem Fall klinische Anzeichen einer Unverträglichkeit beobachtet werden. Bei den nach dreimaliger Behandlung mit 100 mg/kg Körpergewicht Amoxicillin-Trihydrat-Suspension durchgeführten histologischen Untersuchungen wurden weder in der Leber noch in der Niere Anzeichen für eine gewebsschädigende Wirkung des Amoxicillins festgestellt. Es ist daher anzunehmen, daß die Ergebnisse der an Ratten und Hunden durchgeführten Toxizitätsuntersuchungen (ANONYM, 1983), die auch bei wochenlanger ständiger Überdosierung keine Hinweise auf eine Unverträglichkeit erbrachten, mit großer Wahrscheinlichkeit weitgehend auf den Vogel übertragbar sind.

FUDGE (1983) schreibt, daß Berichte über eine Penicillinallergie beim Vogel nicht vorliegen, obgleich er die Möglichkeit des Auftretens einer solchen Unverträglichkeitsreaktion nicht vollständig ausschließt. Die eigenen Beobachtungen während der Untersuchungen ergaben ebenfalls keinerlei Hinweis auf das Auftreten einer allergischen Reaktion. Auch bei Tieren, die einer mehrmaligen Behandlung ausgesetzt waren, und bei denen somit die Möglichkeit einer Sensibilisierung denkbar erscheint, wurden keine Anzeichen einer Allergie beobachtet.

Es läßt sich zusammenfassend sagen, daß mit dem Auftreten toxischer Erscheinungen auch bei Überdosierung von Amoxicillin nicht zu rechnen ist; das Auftreten einer Penicillinallergie beim Vogel ist nicht mit letzter Sicherheit auszuschließen, die Wahrscheinlichkeit ist jedoch als äußerst gering anzusehen.

Eine Dosierungsempfehlung für die Anwendung von Amoxicillin bei der Taube muß berücksichtigen, daß

- Amoxicillin-Natriumsalz wegen der geringen Haltbarkeit von 6 Stunden nach Herstellung der Injektionslösung für die Anwendung am Vogel ausscheidet

- unter den untersuchten Amoxicillin-Zubereitungen und Applikationsarten die subcutane Verabreichung einer Amoxicillin-Trihydrat-Suspension die günstigste Pharmakokinetik aufweist
- bei Verwendung einer Amoxicillin-Trihydrat-Suspension die individuellen Unterschiede bezüglich der Resorptions- und Ausscheidungsgeschwindigkeit relativ groß sind
- die in den untersuchten Geweben mit Ausnahme der Niere gefundenen Konzentrationen mehr oder weniger deutlich unter den jeweiligen Plasmakonzentrationen liegen
- eine bestehende Infektion mit *Salmonella typhimurium* eine deutliche Verkürzung der Wirkungsdauer von Amoxicillin bewirkt
- die angenommene mindest-wirksame Konzentration von 2 µg/ml hoch angesetzt ist
- die Gefahr toxischer Nebenwirkungen äußerst gering erscheint.

Unter Einbeziehung dieser Faktoren kann aus den Ergebnissen der eigenen Untersuchungen folgende Empfehlung abgeleitet werden:

- 1.) Von den untersuchten Amoxicillin-haltigen Präparaten kann Clamoxyl^R-15 % Suspension für die Anwendung bei der Taube empfohlen werden.
- 2.) Die Applikation sollte subcutan erfolgen.
- 3.) Die Grunddosierung beträgt 100 bis 150 mg/kg Körpergewicht alle 24 Stunden.
- 4.) Bei Infektionen mit nur schwach Amoxicillin-empfindlichen Erregern und bei Befall von Organsystemen, in denen die Amoxicillin-Konzentration deutlich unter dem Plasma-Wert liegt, sollte die Dosierung auf 100 bis 150 mg/kg alle 12 Stunden oder 150 bis 200 mg/kg alle 24 Stunden erhöht werden.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Amoxicillin ist ein modernes Breitspektrumantibiotikum aus der Gruppe der halbsynthetischen Penicilline. Es wurden bei der gesunden Taube die Plasma-Konzentrationen nach Verabreichung von Amoxicillin-Trihydrat-Pulver peroral, Amoxicillin-Natrium-Lösung intramuskulär, Amoxicillin-Trihydrat-Suspension intramuskulär und Amoxicillin-Trihydrat-Suspension subcutan bestimmt. Die Dosis betrug bei der peroralen Applikation 130 mg/kg Körpergewicht, ansonsten 100 mg/kg. Bei diesen Untersuchungen erbrachte die subcutane Gabe von Amoxicillin-Trihydrat-Suspension den günstigsten Verlauf der Plasma-Konzentration; die Plasma-Spitzenkonzentration betrug 36,9 µg/ml, eine wirksame Konzentration von mehr als 2 µg/ml konnte über 29 Stunden aufrecht erhalten werden.

Nach der Verabreichung von Amoxicillin-Trihydrat-Suspension subcutan wurden außer den Plasma- auch die Gewebe-Konzentrationen bestimmt. Hierbei lagen die beobachteten Konzentrationen in der Niere weit über den Plasma-Werten, die Konzentrationen in Leber, Lunge, Muskel und Gehirn lagen mehr oder weniger deutlich unterhalb der jeweiligen Plasma-Konzentration.

Die Blut- und Gewebe-Konzentrationen nach der Applikation von Amoxicillin-Trihydrat-Suspension wurden auch bei Tauben bestimmt, die drei Tage zuvor mit 10^9 Keimen von *Salmonella typhimurium* infiziert worden waren. Hierbei war die Plasmahalbwertszeit im Vergleich zum gesunden Tier stark verkürzt; die Konzentration von 2 µg/ml wurde bereits nach 13,2 Stunden unterschritten.

Weder histologische Untersuchungen an Leber und Niere von drei Tage lang behandelten Tieren noch die klinischen Beobachtungen während des Untersuchungszeitraumes ergaben Hinweise auf toxische Nebenwirkungen des Amoxicillins.

Aufgrund der Untersuchungsergebnisse wird die subcutane Applikation von Amoxicillin-Trihydrat-Suspension (Clamoxyl^R-15 % Suspension) in einer Dosis von 100 bis 150 mg/kg Körpergewicht alle 24 Stunden empfohlen; in Abhängigkeit von der Schwere und der Lokalisation der Infektion kann die Dosierung auf 100 bis 150 mg/kg alle 12 Stunden oder 150 bis 200 mg/kg alle 24 Stunden erhöht werden.

Falls nach 3 Behandlungstagen keine klinische Besserung eingetreten ist, wird die Weiterbehandlung mit Amoxicillin nur nach Sicherstellung der Erregersensitivität durch Antibiotogramm empfohlen.

Pharmacokinetic Examinations of Amoxicillin with Healthy and Specifically Infected Adult Pigeons (*Columba livia* Gmel., 1789)

Summary

The semisynthetic penicillin amoxicillin is a modern broad-spectrum antibiotic. Its plasma-concentrations were examined after the administration of amoxicillin-trihydrate-powder p.o., amoxicillin-sodium-solution i.m., amoxicillin-trihydrate-suspension i.m. and amoxicillin-trihydrate-suspension s.c. to healthy pigeons. The individual dose was 130 mg/kg bodyweight for the p.o. application and 100 mg/kg in the other cases. In these examinations the s.c. application of amoxicillin-trihydrate-suspension showed the most favourable pharmacokinetic; the peak-concentration was 36,9 $\mu\text{g/ml}$, a therapeutic level of more than 2 $\mu\text{g/ml}$ was maintained for 29 hours.

Tissue concentrations were examined after the s.c. administration of amoxicillin-trihydrate-suspension. The amoxicillin concentration in the kidney surpassed the plasma-concentration by far; the concentrations in liver, lung, muscle and brain were more or less significantly below the plasma concentration.

The plasma and tissue concentrations were also examined after the administration of amoxicillin-trihydrate-suspension to pigeons which had been infected three days earlier with 10^9 bacteria of *Salmonella typhimurium*. In this case the plasma half-life of amoxicillin was much shorter; after 13,2 hours the plasma concentration fell below 2 $\mu\text{g/ml}$.

Neither histological examinations of liver and kidney of pigeons treated with amoxicillin for three days nor clinical observations showed any sign of a toxic effect.

Because of the results of the examinations the s.c. application of amoxicillin-trihydrate-suspension (Clamoxyl^R-15 % Suspension) is recommended at a dose of 100 to 150 mg/kg every 24 hours; in severe cases the dosage may be increased to 100 to 150 mg/kg every 12 hours or 150 to 200 mg/kg every 24 hours.

If there is no clinical improvement after 3 days of treatment with amoxicillin, the continuation is only recommended after confirmation of the sensitivity of the germ.

Ensayo farmaco-cinético de Amoxicilina usando palomas adultas (Columba livia Gmel., 1789) sanas y específicamente infectadas.

Resumen:

Amoxicilina (A.) es un antibiótico de rango amplio perteneciente al grupo de las penicilinas semisintéticas.

Se medieron las concentraciones plasmáticas del antibiótico aplicando polvo de trihidrato de A. peroralmente (130 mg/kg peso vivo) o solución acuosa de sodium de A. o suspensión de trihidrato de A. intramuscularmente o subcutáneamente (100 mg/kg peso vivo respectivamente) en la paloma sana. La aplicación subcutánea de suspensión de trihidrato de A. dió los mejores resultados. La concentración máxima en el plasma alcanzó 36.9 $\mu\text{g/ml}$; un nivel eficiente de mas de 2 $\mu\text{g/ml}$ se obtuvo por 29 horas.

Después de aplicación subcutánea de trihidrato de A. la concentración de la sustancia activa en los riñones sobrepasó la del plasma, las concentraciones en los tejidos de hígado, pulmones, musculos y cerebro quedaron inferiores a la del plasma.

Se controlaron las concentraciones de A. también en el plasma y los tejidos mencionados anteriormente examinando palomas 3 días anteriormente infectadas con 10^9 germen de Salmonella typhimurium. En comparación con los resultados obtenidos con palomas sanas la concentración eficiente se subpasó en 13 horas.

No hubo indicación de afectos secundarios de A. ni clínicamente ni histológicamente.

Se recomienda la aplicación subcutánea de suspensión de trihidrato de A. (Suspensión de Clamoxyl^R - 15%) en dosis de 100 - 150 mg/kg peso vivo en palomas. Dependiente de la gravedad y de la localización de la infección se puede aumentar la dosis a 100 - 150 mg/kg cada 12 horas o 150 - 200 mg/kg cada 24 horas.

Después de 3 días de tratamiento hay que revisar la eficacia del antibiótico contra el germen involucrado.

6. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
Tab.	Tabelle
MHK	Minimale Hemm-Konzentration
Tgb.-Nr.	Tagebuch-Nummer
KBE	Kolonie-bildende Einheit
LD ₅₀	Letale Dosis 50 %
p.a.	post applicationem
p.o.	peroral
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
s.c.	subcutan
C _{max}	Maximale Konzentration
T _{max}	Zeit, nach der C _{max} erreicht wird
T _{1/2}	Halbwertszeit
T _{2µg/ml}	Zeit, nach der die Konzentration 2 µg/ml unterschritten wird

7. LITERATURVERZEICHNIS

- ACRED, P. *d*-Amino-p-Hydroxybenzylpenicillin (BRL 2333),
 HUNTER, P.A. a new Broad-spectrum Semisynthetic Penicillin:
 MIZEN, L. In Vivo Evaluation.
 ROLINSON, G.N. Antimicrob. Agents Chemotherap. 10, 416 - 422, 1970
- AKIMOTO, Y. Amoxicillin Concentrations in Serum, Jaw Cyst and
 KANEKO, K. Jawbone following a Single Oral Administration.
 TAMURA, T. J. Oral Maxillofac. surg. 40, 5, 287 - 293, 1982
- ANONYM Clamoxyl^R; Breitspektrum-Penicillin mit schneller
 Keimabtötung.
 Beecham-Wülfig GmbH & Co. KG, Neuss Juni 1983
- BARBHAIYA, R.H. A Simple, Rapid Fluorometric Assay of Amoxicillin
 TURNER, P. in Plasma.
 SHAW, E. Clinica Chimica Acta 77, 373 - 377 1977
- BASKER, M.J. Activity of Amoxycillin, Alone, and in Combination
 SUTHERLAND, R. with Aminoglycoside Antibiotics against Strepto-
 cocci associated with Bacterial Endocarditis.
 J. Antimicrob. Chemother. 3, 273 - 282 1977
- BEIN, G. Der Einsatz von Amoxicillin bei bakteriellen
 Infektionen im Kindesalter.
 Clamoxyl Symposium, Advances in Clinical Pharma-
 cology Vol. 7, 68 - 71 1973
- BRANDER, G.C. Tissue Distribution of an Antibiotic: Amoxicillin.
 Vet. Med./Small Animal Clinician 72, 4 suppl.,
 744 - 751 1977

- BROGDEN, R.N. Amoxicillin Injectable: a Review of its Antibac-
 HEEL, R.C. terial Spectrum, Pharmacokinetics and Therapeutic
 SPEIGHT, T.M. Use.
 AVERY, G.S. Drugs 18, 169 - 184 1979
- BUSWELL, J.F. Studies on the Bioavailability, Pharmacokinetics
 PALMER, G.H. and Residues of Semi-synthetic Penicillins in Re-
 lation to their Veterinary Application.
 Antibiotics and Antibiosis in Agriculture (edited
 by M. Woodbine) 307 - 314 1977
- BYWATER, R.J. Discrepancy between Antibiotic (Amoxycillin) Re-
 PALMER, G.H. sistance in Vitro and Efficacy in Calf Diarrhoea.
 WANSTALL, S.A. Vet. Record 102, 7, 150 - 151 1978
- CHELVAN, P. Pharmacokinetics of Parenteral Amoxycillin, Bi-
 HAMILTON-MILLER, liary Excretion and Effect of Renal Failure.
 J.M.T. J. Antimicrob. Chemother. 5, 2, 232 - 233, 1979
 BRUMFITT, W.
- COLE, M. Metabolism of Penicillins to Penicilloic Acids
 KENIG, M.D. and 6-Aminopenicillanic Acid in Man and its
 HEWITT, V.A. Significance in Assessing Penicillin Absorption.
 Antimicrob. Agents Chemother. 3, 4, 463 - 468
 1973
- COMBER, K.R. Comparative Effects of Amoxycillin and Ampicillin
 BOON, R.J. on the Morphology of Escherichia coli in Vivo and
 SUTHERLAND, R. Correlation with Activity.
 Antimicrob. Agents Chemother. 12, 6, 736 - 744
 1977
- DAVIDSON, D.F. A Simple Chemical Method for the Assay of Amoxy-
 cillin in Serum and Urine
 Clinica Chimica Acta 69, 67 - 71 1976

- DINNENDAHL Arzneistoffprofile.
FRICKE Gori Verl. Frankfurt 1982, Erg. Liefer. 1983
und 1984
- DORRESTEIN, G.M. A Preliminary Report on Pharmacokinetics and
vanGOGH, H. Pharmacotherapy in Racing Pigeons (*Columba livia*).
RINZEMA, J.D. Proceed. 1984 Intern. Conf. Avian Med., 9 - 24
VREE, T.B.
NOUWS, J.F.M.
BUIBELAAR, M.N.
- DORRESTEIN, G.M. Pharmacokinetics and Tissue Distribution of
vanGOGH, H. Ampicillin and Amoxycillin after Intravenous,
RINZEMA, J.D. Intramuscular and Oral Administration in Homing
BUIBELAAR, M.N. Pigeons (*Columba livia*).
Proceed. III. Symp. Europ. Assoc. Vet. Pharmac.
Toxic. Gent 1985
- DOWRICK, J.S. Some Biopharmaceutical Considerations of Subcu-
taneous and Intramuscular Injections used in
Veterinary Medicine.
Trends in Veterinary Pharmacology and Toxicology;
Proceed. First Europ. Cong., Zeist, 1979
Develop. Anim. Vet. Sci. Vol. 6, 47 - 53
- ESTLER, C.J. Lehrbuch der allgemeinen und systematischen Phar-
makologie und Toxikologie.
F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart 1983
- FIEGEL, P. Amoxicillin in der Behandlung von Harnwegsinfek-
HÖFFLER, D. tionen.
Clamoxyl Symposium, Advances in Clinical Pharma-
cology, Vol. 7, 77 - 82 1973

- FORTH, W. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und
 HENSCHLER, D. Toxikologie.
 RUMMEL, W. B. I. Wissenschaftsverlag, 3. überarbeitete
 Aufl. 1980
- FRANCIS, M.E. Amoxicillin: Clinical Trials in Dogs and Cats.
 MARSHALL, A.B. Vet. Rec. 102, 17, 377 - 380 1978
 TURNER, W.T.
- FRICKER, U. Bestimmung der Serum- und Speichelkonzentrationen von Clindamycin (Dalacin C^R) und Amoxycillin (Clamoxyl^R).
 OSBORN, J.F. Schweizerische Monatsschrift für Zahnheilkunde,
 WÜST, J. 89, 8, 738 - 747 1979
- FUDGE, A.M. Avian Antimicrobial Therapy.
 Proceedings of 1983 Annual Meeting of the Assoc.
 of Avian Veterinarians 162 - 183 1983
- GERTHSEN, C. Physik.
 KNESER, H.O. Springer Verlag Berlin, 12. Aufl. 1974
 VOGEL, H.
- HALLMANN, L. Klinische Mikrobiologie.
 BURKHARDT, F. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 4. Aufl. 1974
- HAMILTON, P. Veterinary Analytical Method; Microbiological
 Agar Diffusion Assay; Amoxicillin Plate Assay.
 Beecham Research Laboratories, Ref. Nr. VAM 266/1
 1980
- HANSON, J.O. Clinical Efficacy of Amoxicillin in Bovine Mastitis.
 Vet. med./Small Animal Clinician, 72, 4 suppl.,
 772 - 775 1977

- HUNTER, P.A. Comparative Activity of Amoxycillin and Ampicillin
 ROLINSON, G.N. in an Experimental Bacterial Infection in Mice.
 WITTING, D.A. Antimicrob. Agents Chemother. 4, 3, 285 - 293, 1973
- JONES, F.D. Treatment of Otitis Media in Pediatric Practice:
 Amoxicillin versus Ampicillin.
 J. Inf. Dis. 129 suppl., 187 - 188 1974
- JONES, K.H. The Toxicology, Absorption and Pharmacokinetics
 HILL, S.A. of Amoxicillin. .
 Clamoxyl Symposium, Advances in Clinical Pharma-
 cology, Vol 7, 20 - 27 1973
- KEEFE, T.J. Toxicology Studies with Amoxicillin.
 Vet. med./ Small Animal Clinician, 72, 4 suppl.,
 739 - 743 1977
- KISS, I.J. Amoxicillin Levels in Human Serum, Bile, Gall-
 FARAGO, E. bladder, Lung and Liver-tissue.
 SCHNITZLER, J. Int. J. Clin. Pharm., Ther. Toxic. 19, 2 ,
 VARHELYI, I. 69 - 74 1981
- KNOTHE, H. In-Vitro-Aktivität von Amoxicillin.
 Clamoxyl Symposium, Advances in Clinical Pharma-
 cology, Vol. 7, 16 - 19 1973
- LASHEV, L. Blood Amoxicillin Concentrations in Agricultural
 DRUMEV, D. Animals and Poultry treated with Drug Forms con-
 taining Amoxicillin Sodium and Amoxicillin Trihydrate.
 Vet. Med. Nauki (Sofia), 20, 9, 96 - 105, 1983
- LASHEV, L. Absorption and Distribution of Amoxicillin in
 SEMERJIEV, V. Fowls and Mallard Ducks.
 Vet. Med. Nauki, 20, 5/6, 22 - 28 1983

- LENSCH, J. Clamoxyl, ein neues Antibiotikum zur Therapie des MMA-Komplexes der Sauen aus der Sicht einer tierärztlichen Landpraxis.
Der Praktische Tierarzt, 63, 8, 723 - 726, 1982
- LOVE, D.N. Serum Levels of Amoxycillin following its Oral Administration to Thoroughbred Foals.
ROSE, R.J. Equine Vet. J., 13, 1, 53 - 55 1981
MARTIN, I.C.A.
BAILEY, M.
- MASADA, M. Structural Investigation of New Metabolites of Aminopenicillins excreted in Human Urine.
KURODA, Y. Chem. Pharm. Bull., 28, 12, 3527 - 3536, 1980
NAKAGAWA, T.
UNO, T.
- MAY, J.R. Amoxicillin in the Treatment of Infections of the Lower Respiratory Tract.
INGOLD, A. J. Inf. Dis., 129 suppl., 189 - 193 1974
- MIKI, F. Absorption, Excretion, Distribution and Metabolism of Amoxycillin.
Excerpta medica. Int. Congr. series 326, 25 - 38 1974
- MIYAKAZI, K. Fluorometric Determination of Amoxicillin.
OGINO, O. Chem. Pharm. Bull., 25, 2, 253 - 258 1977
NAKANO, M.
ARITA, T.
- MOLL, F. Zur Stabilität von Amoxicillin unter pH-Bedingungen des Gastrointestinaltraktes.
ESPERESTER, A. Pharm. Ind. 46, 2, 204 - 208 1984

- NAKAZAWA, S. In Vitro and in Vivo Evaluation of Amoxycillin.
Excerpta medica. Int. Congr. series, 326,
11 - 24 1974
- NEU, H.C. Antimicrobial Activity and Human Pharmacology
of Amoxicillin.
J. Inf. Dis., 129 suppl., 123 - 131 1974
- PALMER, G.H. Amoxicillin; a New Veterinary Penicillin.
BUSWELL, J.F. Vet. Rec. 99, 5, 84 - 85 1976
DOWRICK, J.S.
YEOMAN, G.H.
- PALMER, G.H. Amoxycillin: Distribution and Clinical Efficacy
BYWATER, R.J. in Calves.
FRANCIS, M.E. Vet. Rec. 100, 23, 487 - 491 1977
- POHLMAYER, K. Die Vaskularisation der Pektoralismuskulatur bei
WISSDORF, H. der Reisetäubchen (Columba livia Gmel., 1789) in Hin-
blick auf intramuskuläre Applikation von Medika-
menten.
Der Praktische Tierarzt, 57, 71 - 74 1976
- ROLINSON, G.N. Amoxicillin - ein neues halbsynthetische Penicillin.
Clamoxyl Symposium, Advances in Clinical Pharma-
cology, Vol. 7, 2 - 6 1973
- RUSSELL, E.J. Activity of Amoxycillin against Enterococci and
SUTHERLAND, R. Synergism with Aminoglycoside Antibiotics.
J. Med. Microb. 8, 1, 1 - 10 1975
- SABRAUTZKI, S. Zum Verlauf der Gentamycin-Konzentration in Se-
rum und Gewebe bei der Taube (Columba livia Gmel.,
1789 Var. domestica).
Diss. med. vet., München 1983

- SPYKER, D.A. Pharmacokinetics of Amoxicillin: Dose Dependence
 RUGLOSKI, R.J. After Intravenous, Oral, and Intramuscular Ad-
 VANN, R.L. ministration.
 O'BRIEN, W.M. Antimicrob. Agents Chemother. 11, 1, 132 - 141,
 1977
- SUTHERLAND, R. In Vitro Antibacterial Activity of Amoxicillin
 alone and in Combination with other Antibiotics.
 Clamoxyl Symposium, Advances in Clinical Pharma-
 cology, Vol. 7, 7 - 15 1973
- TAN, J.S. Levels of Amoxicillin and Ampicillin in Human Se-
 BANNISTER, T. rum and Interstitial Fluid.
 PHAIR, J.P. J. Inf. Dis., 129 suppl., 146 - 148 1974
- VREE, T.B. Rapid Determination of Amoxicillin (Clamoxyl^R)
 HEKSTER, Y.A. and Ampicillin (Penbritin^R) in Body Fluids of
 BAARS, A.M. many by Means of High-performance Liquid
 vanderKLEIJN, E. Chromatography.
 J. Chromatogr. 145, 496 - 501 1978
- WATSON, A.D.J. Effect of Feeding on Plasma Antibiotic Concentra-
 EGERTON, J.R. tions in Greyhounds given Ampicillin and Amoxy-
 cillin by Mouth.
 J. Small Anim. Pract. 18, 779 - 786 1977
- YEOMAN, G.H. Microbiology and Bioavailability of Amoxicillin.
 Vet.Med./Small Anim. Clinic., 72, 4 suppl.,
 720 - 738 1977 a
- YEOMAN, G.H. Amoxicillin: United Kingdom Field Studies.
 Vet.Med./Small Anim. Clinic., 72, 4 suppl.,
 787 - 800 1977 b
- ZIV, G. Serum and Milk Concentrations of Ampicillin and
 NOUWS, J.F.M. Amoxicillin in Ruminants.
 Refuah Veterinarith, 36, 3, 104 - 111 1979

Herrn Prof. Dr. J. Kösters möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas und des Arbeitsplatzes sowie für seine stets freundliche und gern gewährte Hilfe bei der Planung und Durchführung der Arbeit danken.

Frau Dr. Gerlach danke ich für ihre freundliche Hilfe bei allen bakteriologischen und histologischen Fragestellungen.

Bei Herrn Prof. Dr. Petter vom Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Tierärztlichen Fakultät bedanke ich mich für die Überlassung des Meßplatzes am Fluoreszenzphotometer; bei Herrn Dr. Breuninger bedanke ich mich für die Einarbeitung an diesem Gerät.

Allen Mitarbeitern und Doktoranden am Institut für Geflügelkrankheiten, die mich durch ihre Hilfe bei der Durchführung der Arbeit oder durch fruchtbare Diskussionen bei der Auswertung der Versuche unterstützt haben, spreche ich hiermit meinen herzlichen Dank aus.

Lebenslauf

- 1958 Geboren am 29.3. in Pforzheim als zweiter von drei Söhnen des
Arztes Dr. Jost Krieg und seiner Frau Gabriele, geb. Horneffer
- 1964 Volksschule in Pforzheim
- 1967 Neusprachliches Hebel-Gymnasium in Pforzheim
- 1976 Abitur
- 1976 Studium der Physik an der Universität Karlsruhe
- 1977 Grundwehrdienst
- 1978 Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität
München
- 1983 Staatsexamen und Approbation zum Tierarzt
- 1984 Beschäftigung mit der vorliegenden Arbeit

